

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Biserka H. Tirmenštajn Jankovi

DIJAGNOSTI KI I PROGNOZI KI
ZNAČAJ KARDIJALNIH BIOMARKERA
KOD ASIMPTOMATSKIH BOLESNIKA SA
HRONIČNOM BUBREŽNOM
INSUFICIJENCIJOM

Doktorska disertacija

Beograd, 2014.

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Biserka H. Tirmenštajn Jankovi

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC
SIGNIFICANCE OF CARDIAC
BIOMARKERS IN ASYMPTOMATIC
PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY
DISEASE

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014.

PODACI O MENTORU I KOMISIJI

Mentor

Prof. dr Nada Dimkovi , Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Komentor

VNS dr Gordana Peruni i Pekovi , Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

KOMISIJA

1. Prof. dr Višnja Ležai , Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Dimitra Kalimanovska Oštri , Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Igor Miti , Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu

Izjave zahvalnosti

Zahvaljujem se svom mentoru, prof. dr Nadi Dimkovi , na svemu što sam od nje naučila tokom naše dugogodišnje saradnje. Hvala Vam za poverenje koje ste mi ukazali i koje je tokom svih ovih godina održavalo moju motivisanost da, uprkos povremenim teškoćama, završim zapravo eto istraživanje. Hvala na stručnom usmeravanju, na kritičnim sugestijama i na vratima uvek otvorenim za sva moja pitanja.

Zahvaljujem se komentoru dr Gordani Peruni i Pekovi koja mi je svojim iskustvom i savetima u velikoj meri pomogla u izradi teze.

Najsrdnije se zahvaljujem svim saradnicima koji su učestvovali u praktičnom delu istraživanja na utrošenom vremenu, entuzijazmu i besprekornoj organizaciji. Posebno zahvaljujem prof. Zoranu Radoju i učenicima, koji mi je pomogao da dublje razumim u svet statistike i sa razumevanjem usvojim meni dotad nepoznate statističke metode. Zahvaljujem i svim svojim prijateljima i kolegama, za iskazanu toleranciju, za poklonjenu pažnju, reči i podrške i ohrabrenja.

Na kraju, naročito veliku zahvalnost dugujem svojim roditeljima, Ivki i Hranislavu, za безусловnu ljubav kojom su protkali ovaj moj život, svom suprugu Srdjanu i sinu Andreju koji su mi svojim beskrajnim strpljenjem, razumevanjem i ljubavlju pomogli da istrajem. Bez vas ne bih uspela!

REZIME

DIJAGNOSTI KI I PROGNOZI KI ZNA AJ KARDIJALNIH BIOMARKERA KOD ASIMPTOMATSKIH BOLESNIKA SA HRONI NOM BUBREŽNOM INSUFICIJENCIJOM

Kardiovaskularne bolesti su naj eš i uzrok smrti bolesnika sa terminalnom fazom hroni ne bubrežne bolesti (HBB) i smatraju se odgovornim za više od 50% svih smrtnih ishoda. Zbog toga se stratifikacija kardiovaskularnog rizika sve eš e razmatra kao osnovni preduslov za razvoj strategije koja bi unapredila klini ko vo enje i ishod bolesnika sa HBB. Radi brze i jednostavne identifikacije visokoriznih bolesnika, poslednjih godina je zapo elo ispitivanje potencijalnog zna aja kardijalnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika sa razli itim stepenima renalne disfunkcije. Kao biomarkeri od posebnog interesa izdvojeni su: biomarkeri miokardne nekroze - kardijalni troponini T i I (cTnT i cTnI); markeri sr ane insuficijencije - B tip natriuretskog peptida (BNP) i amino-terminalni deo njegovog prohormona (NT-proBNP); i marker sistemske inflamacije visokosenzitivni C-reaktivni protein (hsCRP).

Cilj naše studije je bio ispitivanje a) povezanosti nivoa kardijalnih biomarkera sa kardiovaskularnim statusom asimptomatskih bolesnika u IV i V stadijumu HBB; b) prognozi kog zna aja kardijalnih biomarkera za neželjene kardiovaskularne događaje, smrtni ishod i progresiju ka terminalnom stadijumu HBB.

U studiju su uklju eni bolesnici u predijaliznom periodu HBB (stadijum IV-V, ja ina glomerularne filtracije <30 ml/min), bez klini kih dokaza sr ane insuficijencije i/ili koronarne bolesti (n=61, 34M, prose ne starosti 62.9±12.5 godina) i zdravi dobrovoljci srodni po starosti i polu (n=22, 12M, prose ne starosti 63.7±9.0 godina) kao kontrolna grupa. Prilikom inicijalne klini ke procene, pregledana je medicinska dokumentacija svakog ispitanika, uradjen je fizi ki pregled i popunjen upitnik o demografskim podacima, istoriji bolesti i koriš enim lekovima. Izmeren je krvni pritisak, telesna težina i visina i uzeti su uzorci venske krvi za laboratorijske analize. Svim ispitanicima uradjen je standardni ehokardiografski pregled, kao i pregled metodom tkivnog Dopplera (TDI – Tissue Doppler Imaging). Od strukturnih ehokardiografskih parametara, mereni su

enddiastolni dijametar leve komore (LVEDD), endsistolni dijametar leve komore (LVESD), debljina zadnjeg zida leve komore u dijastoli (PWTd) debljina interventrikularnog septuma u dijastoli (IVSTd) i dijametar leve pretkomore (LA), i izra unati su masa leve komore (LVmass), indeks mase leve komore (LVMI) i relativna debljina zida leve komore (RWT). Sistolna funkcija je procenjena merenjem ejeckione frakcije leve komore (EF) i izra unavanjem frakcionog skra enja (FS), a kao parametri za procenu dijastolne funkcije leve komore koriš eni su maksimalna brzina rane faze komorskog punjenja (talas E), maksimalna brzina kasne faze komorskog punjenja (talas A), odnos E/A (ra un iz dobijenih vrednosti), vreme deceleracije talasa E (DT), izovolumetrijsko vreme relaksacije (IVRT), kao i brzina propagacije mitralnog protoka zabeležena M-mod kolor Doppler-om (Vp). Globalna funkcija je procenjena izra unavanjem MPI (myocardial performance index). TDI tehnikom procenjena je maksimalna brzina mitralnog anulusa na septalnom i lateralnom uglu, u sistoli (V's i V'l), u ranoj fazi dijastole (E's i E'l) i u kasnoj fazi dijastole (A's i A'l), a iz dobijenih vrednosti izra unati su odnosi E'/A' i E/E'. Ehosonografskim pregledom karotidnih arterija merena je debljina intime medije zadnjeg zida zajedni ke karotidne arterije (DIM) i registrovano je prisustvo plakova i kalcifikacija.

Ehokardiografskim pregledom je ustanovljeno da asimptomatski bolesnici sa IV i V stadijumom HBB imaju zna ajno ve e prose ne vrednosti brojnih strukturnih parametara (LA, PWT, IVST, LVmass, LVMI, RWT) i ve u u estalost HLK (91.8%, $p<0.05$) u odnosu na kontrolnu grupu. Parametri sistolne funkcije su bili blago sniženi u bolesni koj grupi (EF, V's: $p<0.05$), ali je dijastolna funkcija bila u zna ajnoj meri poreme ena: izmerene su zna ajno niže vrednosti E's ($p<0.001$), E'l ($p<0.05$) i Vp ($p<0.01$) nego u kontrolnoj grupi, dok su izra unate vrednosti odnosa E/E' bile zna ajno više ($p<0.001$). Kalcifikacije mitralnih i aortnih zalistaka bile su zna ajno eš e u grupi bolesnika sa HBB ($p<0.01$). Izmerene vrednosti DIM na karotidnim arterijama bile su prose no ve e u grupi bolesnika nego u kontrolnoj grupi ($p<0.001$), a kalcifikovani plakovi su registrovani sa zna ajno ve om u estaloš u ($p<0.01$). Asimptomatski bolesnici sa HBB imali su više prose ne vrednosti svih kardijalnih biomarkera u odnosu na kontrolnu grupu: hsCRP-a ($p<0.05$), BNP-a ($p<0.01$), NTproBNP-a ($p<0.001$), TnT-a ($p<0.001$) i TnI-a ($p<0.01$).

Povezanost kliničkih, laboratorijskih i ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa sa nivoom pojedinih kardijalnih biomarkera kod bubrežnih bolesnika je ispitana multivarijantnom linearnom regresionom analizom. Kada je multipla linearna regresija izvršena sa logaritamski transformisanim vrednostima (ln) CRP-a kao zavisnom varijablom, identifikovani su DIM karotidnih arterija, zasićenje transferina, brzina sedimentacije eritrocita i broj leukocita kao nezavisni prediktori lnCRP-a ($R^2=0.508$). Parametri tkivnog Doppler-a A's i E/E'a, godine starosti, BMI i proteinurija su bili nezavisno povezani sa logaritmovanim vrednostima BNP-a ($R^2=0.632$). FS, odnos E/E's, LA, holesterol i nivo hemoglobina su bili statistički značajni prediktori lnNT-proBNP nivoa ($R^2=0.531$). Statistički značajan uticaj na nivo TnI ostvarili su strukturni parametri leve komore IVST i LVESD, MPI kao kombinovani indeks sistolne i dijastolne funkcije leve komore i VLDL holesterol ($R^2=0.383$). Statistički značajan uticaj na nivo TnT ostvarili su nivo hematokrita, alkalne fosfataze i A1 ($R^2=0.502$).

Multivarijantnom Cox regresionom analizom nezavisnu prediktivnu vrednost za ukupni mortalitet bolesnika sa HBB pokazali su: prisustvo aortnih kalcifikacija ($p<0.001$), lnNT-proBNP ($p<0.01$) i vrednost ureje u serumu ($p<0.01$); za kardiovaskularni mortalitet: prisustvo aortnih kalcifikacija ($p<0.01$), lnBNP ($p<0.01$), vrednosti TnT ($p<0.05$) i vrednost ureje u serumu ($p<0.05$); za neželjene kardiovaskularne događaje: lnBNP ($p=0.001$), odnos E'/A'1 ($p<0.01$), starije životno doba ($p<0.05$) i niži BMI ($p<0.05$); za progresiju ka terminalnom stadijumu HBB: vrednost serumskog kreatinina ($p=0.001$) i nivo hemoglobina ($p<0.01$). Logaritamski transformisane vrednosti NT-proBNP-a su pokazale značajnu prediktivnu vrednost za ukupni mortalitet (HR 2.549; CI 1.364-4.766; $p=0.003$). Analizom ROC krive, dobijena optimalna cut off vrednost NT-proBNP-a za predviđanje ukupnog mortaliteta bila je 992 pg/ml, sa specifičnošću u 62.8% i senzitivnošću u 61.1% (AUC=0.732; $p=0.005$). Logaritamski transformisane vrednosti BNP-a su pokazale značajnu prediktivnu vrednost za kardiovaskularni mortalitet (HR 6.3; CI 1.809-21.935; $p=0.004$) i neželjene kardiovaskularne događaje (HR 17.560; CI 3.034-101.560; $p=0.001$). U prognozi rizika od nastajanja kardiovaskularne smrti vrednosti BNP-a za cut off >220.8 pg/ml, pokazuju senzitivnost od 85.7%, specifičnost 78% i površinu ispod krive AUC= 0.831 ($p=0.005$), a u prognozi rizika od pojave neželjenih kardiovaskularnih događaja vrednosti BNP-a za cut off >210 pg/ml pokazuju senzitivnost 81.8%, specifičnost 80.4% i površinu ispod krive

AUC= 0.887 (p=0.000). Nivo TnT takodje predvidja rizik kardiovaskularne smrti (HR: 3.105E9; CI 44.734-2156E17; p=0.018), i cut off vrednost TnT koja diskriminiše preživjele od preminulih sa najboljom senzitivnoš u (77.8%) i specifi noš u (78.8%) je bila 0.05 ng/ml (AUC=0.798; p=0.005). Stratifikovana analiza Kaplan-Meier-ovih kriva pokazala je zna ajnu razliku u preživljavanju izmedju grupa bolesnika sa razli itim nivoom kardijalnih biomarkera za ukupni mortalitet (NT-proBNP, p<0.05; TnT, p<0.05), kardiovaskularni mortalitet (BNP, p<0.05; NT-proBNP, p<0.05; TnT, p=0.001), i neželjene kardiovaskularne događaje (BNP, p<0.01; NT-proBNP, p<0.01; TnT, p<0.001).

Rezultati našeg istraživanja ukazuju da su brojne kardiovaskularne abnormalnosti (HLK, dijastolna disfunkcija, kalcifikacije sr anih valvula, zadebljala intima-medija karotidnih arterija i prisustvo kalcifikovanih plakova) u zna ajnoj meri zastupljene ve kod asimptomatskih bolesnika sa HBB u predijaliznom periodu. Nivoi svih kardijalnih biomarkera su zna ajno viši kod bubrežnih bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu i povezani su sa kardiovaskularnim abnormalnostima strukture i funkcije leve komore koje su detektovane ehokardiografskim pregledom (BNP, NT-proBNP, TnI, TnT) ili sa ehosonografskim parametrima karotidne ateroskleroze (hsCRP). Natriuretski peptidi (BNP, NT-proBNP) i TnT, zajedno sa klini kim i ehokardiografskim parametrima, pokazali su zna ajnu prediktivnu vrednost za ukupni mortalitet, kardiovaskularni mortalitet i/ili neželjene kardiovaskularne događaje. Stoga oni mogu poslužiti kao koristan alat u stratifikaciji kardiovaskularnog rizika u grupi predijaliznih bolesnika sa HBB. Identifikacija podgrupe asimptomatskih bolesnika sa ve im kardiovaskularnim rizikom omogu ila bi njihovo striktnije pra enje, pravovremenu korekciju tradicionalnih i netradicionalnih faktora rizika, kao i izbor daljih dijagnosti kih postupaka i terapijskih strategija u cilju poboljšanja dugoro nog ishoda.

Ključne reči: hroni na bubrežna insuficijencija, natriuretski peptidi, troponini, C-reaktivni protein, ehokardiografija, prognoza

Nau na oblast: Nefrologija i kardiologija

SUMMARY

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CARDIAC BIOMARKERS IN ASYMPTOMATIC PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in patients with end stage chronic kidney disease (CKD) and are considered to be responsible for over half of all deaths. Therefore, the stratification of cardiovascular risk is increasingly considered as a basic requirement for the development of a strategy to improve the clinical management and outcome of patients with CKD. For rapid and easy identification of high-risk patients, in recent years there has begun the examining of the potential importance of cardiac biomarkers in asymptomatic patients with varying degrees of renal dysfunction. As biomarkers of particular interest the following have been indicated: biomarkers of myocardial necrosis - cardiac troponins T and I (cTnT and cTnI), markers of heart failure - B type natriuretic peptide (BNP) and the amino-terminal fragment of its prohormone (NT-proBNP), along with the marker of systemic inflammation high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP).

This study aimed to investigate a) the relationship between the levels of cardiac biomarkers and cardiovascular status of asymptomatic patients with CKD stages IV-V; b) the prognostic value of cardiac biomarkers for adverse cardiovascular events, death, and progression to end-stage CKD.

The study involved 61 pre-dialysis CKD patients (glomerular filtration rate <30 ml/min) with no clinical evidence of heart failure and/or coronary artery disease (34M, mean age 62.9±12.5 years) and 22 age- and sex-matched healthy volunteers (12M, mean age 63.7±9.0 years) as a control group. During the initial clinical assessment, we reviewed medical records of each subject, performed physical examinations and completed questionnaires on demographic parameters, medical history and medication use. On the very day, blood pressure, body weight and height were measured and venous blood was drawn for laboratory examinations. All participants underwent both conventional and Doppler Tissue Imaging (TDI) echocardiography. Cardiac structure was estimated by the following echocardiographic parameters: left ventricular end-diastolic diameter

(LVEDD), left ventricular end-systolic diameter (LVESD), left ventricular posterior wall thickness in diastole (PWTd), interventricular septal thickness in diastole (IVSTd), left atrial diameter (LA), left ventricular mass (LVmass), left ventricular mass index (LVMI) and relative wall thickness (RWT). Systolic function was assessed by left ventricular ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS). Left ventricular diastolic function was assessed by mitral inflow velocities: peak early diastolic filling velocity (E), peak late diastolic filling velocity (A), the E/A ratio, the deceleration time of E velocity (DT), the isovolumetric relaxation time (IVRT) and in addition, color Doppler M-mode flow propagation velocity (Vp) was measured. Myocardial performance index (MPI) was calculated to assess global ventricular function. TDI was applied to assess top mitral annular velocities at septal and lateral corners. Systolic (V's and V'l), early diastolic (E s and E'l) and late diastolic (A s and A'l) TD velocities were measured and the E'/A' ratio and dimensionless parameter E/E' ratio were computed at both corners of the mitral annulus. Ultrasound examination of the carotid arteries included measurement of carotid intima-media thickness (DIM), and determining the presence of plaques and calcifications.

Based on echocardiography, it was found that asymptomatic patients with stage IV and V CKD had a significantly higher average values of the majority of structural parameters (LA, PWT, IVST, LVmass, LVMI, RWT), and a higher prevalence of LVH (91.8 % , $p < 0.05$) compared to the control group. Parameters of systolic function were slightly decreased in the patient group (EF , V's; $p < 0.05$), but the diastolic function was significantly impaired: the mean values of E 's ($p < 0.001$), E'l ($p < 0.05$) and Vp ($p < 0.01$) were significantly lower than in the control group, while the calculated values of E/E' were significantly higher ($p < 0.001$). We found mitral valve and aortic valve calcifications to be significantly more common in CKD group ($p < 0.01$). Carotid intima media thickness (cIMT) and the frequency of calcified plaques were significantly higher in patients compared with control subjects ($p < 0.001$ vs. $p < 0.01$, respectively). Asymptomatic CKD patients had significantly higher levels of all cardiac biomarkers hsCRP ($p < 0.05$), BNP ($p < 0.01$), NTproBNP ($p < 0.001$), TNT ($p < 0.001$) and TNI ($p < 0.01$) relative to the control group.

The relationships of clinical, laboratory and echosonographic parameters of cardiovascular status with the level of some cardiac biomarkers in CKD patients were

explored with multiple linear regression analysis. When multiple linear regression was performed with natural log-transformed values of CRP (lnCRP) as a dependent variable, cIMT, transferrin saturation, erythrocyte sedimentation rate and leukocyte count were identified as independent predictors of lnCRP ($R^2=0.508$). TDI-derived parameters A's and E/E'a, age, BMI and proteinuria were independently related to the natural logarithm of BNP ($R^2=0.632$). FS, the ratio E/E', LA, total cholesterol and hemoglobin levels were statistically significant predictors of lnNT-proBNP levels ($R^2=0.531$). Independent predictors of TnI levels were IVST and LVESD as the structural parameters of the left ventricle, MPI as a combined index of systolic and diastolic function and VLDL cholesterol ($R^2=0.383$). For TnT, multivariate predictors were hematocrit levels, alkaline phosphatase and A1 ($R^2=0.502$).

In multivariate Cox regression analysis, the independent predictive value for all-cause mortality in CKD patients showed: the presence of aortic calcification ($p<0.001$), lnNT-proBNP ($p<0.01$) and blood urea nitrogen levels ($p<0.01$); for cardiovascular mortality: the presence of aortic calcification ($p<0.01$), lnBNP ($p<0.01$), TnT values ($p<0.05$) and blood urea nitrogen levels ($p<0.05$); for adverse cardiovascular events: lnBNP ($p=0.001$), the relationship E1/A1 ($p<0.01$), advanced age ($p<0.05$) and lower BMI ($p<0.05$); for progression to end-stage CKD: serum creatinine ($p=0.001$) and hemoglobin ($p<0.01$). Log-transformed NT-proBNP showed an independent predictive value for all-cause mortality (HR 2.549; CI 1364-4766, $p=0.003$). Receiver-operator curves (ROC) suggested that a cut-off value for NT-proBNP of 992 pg/ml had the best sensitivity (61.1%) and specificity (62.8%) for predicting death (AUC 0.732, $p=0.005$). Logarithmically transformed BNP values were independently highly predictive of cardiovascular mortality (HR 6.3; CI 1809-21935, $p=0.004$) and adverse cardiovascular events (HR 17.560; CI 3034-101560, $p=0.001$). The ROC curve analysis revealed an AUC of 0.831 ($p=0.005$) for prediction of cardiovascular death (the best cut off was 220.8 pg/ml, with a sensitivity of 85.7 % and a specificity of 78 %) and an AUC of 0.887 ($p<0.001$) for the occurrence of adverse cardiovascular events ((the best cut off was 210 pg/ml, with a sensitivity of 81.8 % and a specificity of 80.4 %). TnT levels have also been shown to predict risk of cardiovascular death (HR: 3.105E9; CI 44.734-2156E17, $p=0.018$), and the cut off value discriminating survivors and nonsurvivors with the highest sensitivity (77.8%) and specificity (78.8%) was 0.5 ng/L

(AUC=0.798, $p=0.005$). Kaplan-Meier survival curves after the log-rank test showed a significant prognostic difference between the groups of patients with different levels of cardiac biomarkers for all-cause mortality (NT-proBNP, $p<0.05$; TnT, $p<0.05$), cardiovascular mortality (BNP, $p<0.05$; NT-proBNP, $p<0.05$; TnT, $p=0.001$) and adverse cardiovascular events (BNP, $p<0.01$; NT-proBNP, $p<0.01$; TnT, $p<0.001$).

Our results show that the majority of the cardiovascular disorders (LVH, diastolic dysfunction, cardiac valve calcification, carotid artery intima-media thickening and the presence of calcified plaques) are significantly present in asymptomatic, predialysis patients with CKD. The levels of cardiac biomarkers were significantly higher in CKD patients than in the controls and were associated with left ventricular structural and functional abnormalities detected by echocardiography (BNP, NT-proBNP, TnI, TnT) or with ultrasound parameters of carotid atherosclerosis (hsCRP). Natriuretic peptides (BNP, NT-proBNP) and TnT, together with several clinical and echocardiographic risk factors, showed a significant predictive value for all-cause mortality, cardiovascular mortality and/or adverse cardiovascular events. Therefore, they can serve as a useful tool to stratify cardiovascular risk in a group of predialysis CKD patients. Identification of asymptomatic patients at greater cardiovascular risk would enable their tighter monitoring, timely correction of traditional and non-traditional risk factors, as well as the selection of additional diagnostic procedures and therapeutic strategies to improve outcome.

Key words: chronic kidney disease, natriuretic peptides, troponins, C-reactive protein, echocardiography, prognosis

Scientific field: Nephrology and Cardiology

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Kardiovaskularne bolesti u hroni noj bubrežnoj bolesti.....	4
1.1.1. Definicija i klasifikacija hroni ne bubrežne bolesti.....	5
1.1.2. Epidemiologija kardiovaskularnih bolesti u hroni noj bubrežnoj bolesti.....	7
1.1.2.1. Epidemiološka veza izmedju GFR i neželjenih KV događaja.....	7
1.1.2.2. Epidemiološka veza izmedju albuminurije i neželjenih KV događaja....	8
1.1.2.3. Epidemiološka veza izmedju serumskog cistatina C i neželjenih KV događaja.....	9
1.1.3. Faktori rizika za kardiovaskularne bolesti u hroni noj bubrežnoj bolesti.....	9
1.1.4. Spektr kardiovaskularnih bolesti u hroni noj bubrežnoj bolesti.....	13
1.1.4.1. Hipertrofija leve komore.....	16
1.1.4.1.1. Patogeneza.....	16
1.1.4.1.2. Optere enje volumenom.....	18
1.1.4.1.3. Optere enje pritiskom.....	19
1.1.4.1.4. Poreme aji funkcije leve komore.....	21
1.1.4.2. Ishemijska bolest srca (ateroskleroti ni procesi).....	21
1.1.4.3. Kongestivna sr ana insuficijencija.....	22
1.1.5. Prevalencija kardiovaskularne bolesti u hroni noj bubrežnoj bolesti.....	22
1.1.6. Prognosti ka vrednost kardiovaskularnih bolesti u hroni noj bubrežnoj bolesti.....	24
1.2. Kardijalni biomarkeri.....	26
1.2.1. Definicija, klasifikacija i osobine bioloških markera.....	26
1.2.2. B-tip (brain) natriuretskog peptida (BNP).....	27
1.2.2.1. Tipovi natriuretskih peptida.....	27
1.2.2.2. Otkri e i struktura natriuretskih peptida.....	28
1.2.2.3. Sinteza i oslobadjanje natriuretskih peptida.....	29
1.2.2.4. Klirens natriuretskih peptida.....	30
1.2.2.5. Dejstva natriuretskih peptida.....	31
1.2.2.6. Odredjivanje BNP-a i NT-proBNP-a.....	32
1.2.2.7. Dijagnosti ka primena BNP-a i/ili NT-proBNP-a u opštoj populaciji...33	

1.2.2.8. Uzroci povećanih nivoa BNP-a i NT-proBNP-a u HBB.....	34
1.2.2.9. Dijagnostički potencijal BNP-a i NT-proBNP-a u HBB.....	36
1.2.2.10. Prognostički potencijal BNP-a i NT-proBNP-a u HBB.....	38
1.2.3. Srčani troponini.....	41
1.2.3.1. Tipovi i biologija srčanih troponina.....	41
1.2.3.2. Određivanje srčanih troponina.....	42
1.2.3.3. Uloga cTnT u akutnom infarktu miokarda.....	43
1.2.3.4. Uestalost povećanja srčanog troponina T i I u HBB.....	45
1.2.3.5. Mehanizmi povećanja srčanih troponina u HBB.....	47
1.2.3.6. Prognostička vrednost troponina u HBB.....	48
1.2.4. C-reaktivni protein.....	51
1.2.4.1. Uvod.....	51
1.2.4.2. Prevalencija i uzroci povišenog nivoa CRP-a u HBB.....	52
1.2.4.3. Uloga C-reaktivnog proteina u kardiovaskularnoj bolesti.....	53
1.2.4.3.1. C-reaktivni protein i ateroskleroza.....	53
1.2.4.3.2. C-reaktivni protein i srčana hipertrofija.....	55
1.2.4.4. Prognostička vrednost CRP-a u HBB.....	57
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	62
3. MATERIJAL I METODE.....	65
3.1. Eksperimentalna grupa.....	66
3.2. Kontrolna grupa.....	67
3.3. Protokol ispitivanja.....	67
3.3.1. Laboratorijske analize.....	68
3.3.2. Ehokardiografski pregled.....	70
3.3.2.1. Tehnika pregleda tkivnim Doppler-om.....	78
3.3.3. Klinička i ehokardiografska procena funkcije leve komore.....	81
3.3.4. Ehosonografski pregled karotidnih arterija.....	84
3.4. Statistička analiza.....	85
4. REZULTATI.....	87
4.1. Osnovni podaci o ispitanicima.....	88
4.1.1. Kliničke i demografske karakteristike ispitanika.....	88
4.1.2. Laboratorijske karakteristike ispitanika.....	91

4.2. Kardiovaskularni status ispitanika.....	100
4.2.1. Ehokardiografski parametri i ehosonografske karakteristike karotidnih arterija.....	100
4.2.2. Kardijalni biomarkeri.....	112
4.3. Povezanost kardijalnih biomarkera sa klini kim, laboratorijskim i ehosonografskim parametrima.....	115
4.3.1. Visoko senzitivni C-reaktivni protein.....	115
4.3.1.1. Bolesni ka grupa.....	117
4.3.1.2. Kontrolna grupa.....	119
4.3.2. B tip natriuretskog peptida.....	120
4.3.2.1. Bolesni ka grupa.....	121
4.3.2.2. Kontrolna grupa.....	124
4.3.3. N terminalni fragment proBNP-a.....	125
4.3.3.1. Bolesni ka grupa.....	127
4.3.3.2. Kontrolna grupa.....	129
4.3.4. Troponin I.....	131
4.3.4.1. Bolesni ka grupa.....	131
4.3.4.2. Kontrolna grupa.....	132
4.3.5. Troponin T.....	134
4.3.5.1. Bolesni ka grupa.....	134
4.3.5.2. Kontrolna grupa.....	135
4.4. Prognosti ka vrednost kardijalnih biomarkera.....	136
4.4.1. Prediktori ukupnog mortaliteta.....	136
4.4.2. Prediktori kardiovaskularnog mortaliteta.....	142
4.4.3. Prediktori fatalnih i ne-fatalnih kardiovaskularnih dogadjaja.....	149
4.4.4. Prediktori progresije hroni ne bubrežne bolesti.....	156
5. DISKUSIJA.....	158
5.1. Faktori rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti.....	159
5.2. Kardiovaskularni status bubrežnih bolesnika.....	162
5.2.1. Hipertrofija leve komore.....	162
5.2.2. Sistolna funkcija leve komore.....	165
5.2.3. Dijastolna funkcija leve komore.....	166

5.2.4. Valvularne kalcifikacije.....	168
5.2.5. Vaskularni status.....	171
5.3. Determinante nivoa kardijalnih biomarkera.....	175
5.3.1. C-reaktivni protein.....	175
5.3.2. Natriuretski peptidi.....	178
5.3.3. Sr ani troponini.....	185
5.4. Prognosti ki zna aj kardijalnih biomarkera.....	192
5.4.1. Ukupni mortalitet, kardiovaskularni mortalitet i neželjeni kardiovaskularni dogadjaji.....	192
5.4.1.1. Natriuretski peptidi.....	195
5.4.1.2. Sr ani troponini.....	198
5.4.2. Progresija hroni ne bubrežne bolesti.....	201
6. ZAKLJU AK.....	204
7. LITERATURA.....	209

1. UVOD

Kardiovaskularne (KV) bolesti (KVB), uključujući ishemijsku bolest srca, kongestivnu srčanu insuficijenciju i moždani udar, su glavni uzrok smrti bolesnika sa terminalnom fazom hronične bubrežne bolesti (HBB) i smatraju se odgovornim za više od polovinu svih smrtnih ishoda (1). Zbog enormnog opterećenja KV bolestima, a naročito visoke prevalence subkliničkih oblika bolesti kao što je tiha ishemija miokarda, stratifikacija KV rizika se sve više prepoznaje kao osnovni preduslov za razvoj strategije koja bi unapredila kliničko vođenje i ishod bolesnika sa terminalnom fazom HBB. Radi brze i jednostavne identifikacije visokorizičnih bolesnika, poslednjih godina je započelo ispitivanje potencijalnog značaja kardijalnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika sa različitim stepenima renalne disfunkcije. Ograničeni broj studija sa malim brojem ispitanika, mnoštvo nedovoljno rasvetljenih činjenica i kontroverznih nalaza, razlog su što potencijal kardijalnih biomarkera još uvek nije u potpunosti iskorišćen u ovoj populaciji bolesnika. U najčešće ispitivane kardijalne markere spadaju: biomarkeri miokardne nekroze, kao što su kardijalni troponini T i I (cTnT i cTnI); markeri srčane insuficijencije, kao što su B tip natriuretskog peptida (BNP) i amino-terminalni deo njegovog prohormona (NT-proBNP); i marker sistemske inflamacije, visokosenzitivni C-reaktivni protein (hsCRP).

Prema aktuelnim smernicama Evropskog kardiološkog društva, Američkog kardiološkog koledža i Američkog kardiološkog udruženja (ESC - the European Society of Cardiology, ACC - the American College of Cardiology, AHA - the American Heart Association), srčani troponini, cTnT i cTnI, su standardni biomarkeri za detekciju oštećenja miokarda i dijagnozu infarkta miokarda (2). Pored toga, povećani srčani troponini imaju snažnu prognostičku vrednost za mortalitet bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom bez ST elevacije (3). Međutim, zbog opservacije da je blagi porast kardijalnih troponina čest nalaz u bolesnika sa klinički stabilnom HBB bez znakova oštećenja miokarda, specifičnost i senzitivnost kardijalnih troponina za dijagnozu akutne koronarne bolesti u pacijenata sa renalnom disfunkcijom još uvek nije jasno definisana (4,5). Kada je reč o prognostičkoj interpretaciji blagog porasta kardijalnih troponina kod asimptomatskih bolesnika sa terminalnom fazom HBB, tek su rezultati nedavnih studija ukazali da povišene vrednosti cTnT (>0.1ng/ml) u bolesnika bez akutnog koronarnog sindroma mogu predvideti buduće KV događaje i smrtni ishod (6,7).

HsCRP je senzitivni marker sistemske inflamacije, koji je kod bolesnika sa terminalnom fazom HBB snažan prediktor ukupnog i KV mortaliteta, udružen sa aterosklerozom, malnutricijom, anemijom i rezistencijom na eritropoetin (8). U predijaliznoj fazi HBB, njegov nivo je odraz redukovanog renalnog klirensa, ali je takodje i nezavisan prediktor KV morbiditeta (9). Poslednjih godina se pojavio odredjen broj studija koje su ukazale da hsCRP nije samo indikator sistemske i vaskularne inflamacije, već je u kombinaciji sa kardijalnim troponinima (cTnT i cTnI) važan alat u stratifikaciji rizika dijaliznih bolesnika (10).

Brojne kliničke studije su potvrdile da je merenje BNP-a i NT-proBNP-a u opštoj populaciji diskriminativni faktor od ogromnog značaja za postavljanje ili isključivanje dijagnoze srčane insuficijencije u akutnim stanjima (11). Dokazano je da merenje BNP-a i/ili NT-proBNP-a može pružiti vrednu prognostičku informaciju kod bolesnika sa ustanovljenom disfunkcijom leve komore i akutnim koronarnim sindromom (12), dok se van akutnih stanja merenje BNP-a/proBNP-a predlaže kao sredstvo za procenu verovatnoće disfunkcije leve komore. Medjutim, razlike u molekularnoj veličini BNP-a i NT-proBNP-a uslovljavaju drugačiji metabolizam ovih biomarkera, što je dovelo do pretpostavke o njihovoj različitoj dijagnostičkoj i prognostičkoj vrednosti kod bolesnika sa HBB. Mada su povišeni nivoi cirkulišućih natriuretskih peptida udruženi sa strukturalnim i funkcionalnim kardijalnim abnormalnostima kod bolesnika u različitim fazama HBB, interpretacija dobijenih nalaza je teška jer efekti renalne funkcije na ove markere još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni, pa su i zaključci dosadašnjih studija u priličnoj meri kontroverzni (13,14,15). Sa druge strane, pokazalo se da već jednokratno odredjivanje BNP-a i NT-proBNP-a u plazmi bolesnika lečenih ponavljanim hemodijalizama (HD), nezavisno od vremena uzimanja uzorka, ima snažnu prognostičku vrednost za ukupni i KV mortalitet ovih bolesnika (16,17).

Do sada su istraživanja biomarkera uglavnom bila fokusirana na 1 biomarker ili komparaciju markera unutar iste grupe (npr markeri miokardne nekroze). Retke su studije koje se bave istraživanjem potencijalne koristi od upotrebe panela kardijalnih biomarkera za stratifikaciju rizika bolesnika sa HBB. Apple sa saradnicima je nedavno objavio rezultate studije koja je odredjivala prognostičku vrednost multiplih biomarkera (NT pro BNP-a, cTnT, cTnI i hsCRP-a) za sve uzroke smrti u grupi od 399 bolesnika sa terminalnom fazom HBB tokom 2 godine praćenja. Zaključci ove studije upućuju da

krajnja uloga testiranja kardijalnih biomarkera u stratifikaciji rizika bolesnika na hroničnoj HD ostaje otvorena i da su potrebna dalja istraživanja da bi se procenila potencijalna uloga ovih biomarkera u donošenju kliničkih odluka, kao i socioekonomski značaj povećanih koncentracija kardijalnih biomarkera za vodjenje ili ishod bolesnika sa terminalnom fazom HBB (18). Mallamaci i saradnici su merili koncentracije 3 biomarkera: BNP-a, hsCRP-a i asimetričnog dimetilarginina (ADMA) u kohorti od 246 dijaliznih bolesnika bez srčane insuficijencije, a potom su procenjivali nezavisnu prognostičku vrednost individualnih i kombinovanih biomarkera za ukupni i KV mortalitet. Analiza dobijenih rezultata je ukazala na značajnu prediktivnu vrednost sva 3 biomarkera, koji stoga mogu imati značajnu ulogu, kao deo dijagnostičkih i terapijskih strategija usmerenih na detekciju i tretman aterosklerotičnih komplikacija i prevenciju srčane insuficijencije u dijaliznoj populaciji (19).

Kod bolesnika sa ranijim stadijumima HBB, sposobnost pojedinačnih i multiplih biomarkera da predvide neželjene događaje još uvek nije sa sigurnošću utvrđena. Ukoliko bi se pouzdano utvrdilo da su vrednosti kardijalnih biomarkera udružene sa ranim strukturalnim i funkcionalnim abnormalnostima KV sistema nezavisno od stepena renalne disfunkcije i da mogu identifikovati podgrupu asimptomatskih bolesnika sa lošim preživljavanjem i visokim rizikom srčane smrti, oni bi postali koristan alat u stratifikaciji KV rizika tokom progresije HBB. Podela bolesnika u slojevite grupe sa merljivim rizikom omogućila bi izbor daljih dijagnostičkih postupaka, uključujući invazivna kardiološka ispitivanja i usmeravanje specifične terapije, u skladu sa KV patofiziološkim profilom svake grupe.

1.1. KARDIOVASKULARNE BOLESTI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Prema stavovima AHA, HBB se smatra stanjem najvećeg rizika za razvoj KVB (20). KV morbiditet i mortalitet je posebno dobro proučen u terminalnoj fazi HBB. Još od 1974. godine je poznato da bolesnici lečeni ponavljanim hemodijalizama imaju ubrzani razvoj ateroskleroze i da umiru od KVB u mladjem životnom dobu nego opšta populacija (21). Foley, Parfrey i Sarnak (1998.) kvantifikovali su ovaj rizik, izračunavši da je nakon stratifikacije po starosti, polu, rasi i prisustvu ili odsustvu diabetes mellitus-

a, KV mortalitet dijaliznih pacijenata 10-20 puta veći nego u opštoj populaciji (22). Noviji podaci Američkog registra bubrežnih bolesnika (Renal Data System: USRDS 2003 Annual report) ukazali su da je stopa mortaliteta dijaliznih bolesnika i dalje veća od 20% godišnje, pri čemu je približno 50% smrtnih slučajeva KV porekla (1). U prospektivnoj studiji koja je pratila bolesnike na peritoneumskoj dijalizi (PD), otkriveno je da su KV uzroci zastupljeni i do 65% u ukupnoj smrtnosti (23). Takodje je istaknuto da prisustvo aterosklerotične vaskularne bolesti i srčane insuficijencije povećava naknadni rizik KV mortaliteta više od 3 puta (24), što jasno ukazuje na težinu ovih komplikacija kod bolesnika sa terminalnom fazom HBB.

Medjutim, iako je procenjeno da samo u SAD-u živi čak 8 miliona odraslih osoba sa umereno sniženom stopom glomerularne filtracije (GFR) (25), mnogo je manje dostupnih podataka o stopi smrtnosti, KVB i troškovima lečenja u grupi bolesnika sa HBB koji se još uvek ne leče redovnim dijalizama. Zbog malobrojnosti dugotrajnih i prospektivnih studija, posebno su ograničena saznanja o epidemiologiji i faktorima rizika za razvoj KVB u ranijim fazama HBB.

1.1.1. DEFINICIJA I KLASIFIKACIJA HRONIČNE BUBREŽNE BOLESTI

Američka nacionalna fondacija za bubrežne bolesti (NKF - the National Kidney Foundation) 2002. godine je publikovala opširni dokument koji opisuje faze HBB, zasnovan na analizi baze podataka Istraživačkog odeljenja za nacionalno zdravlje i ishranu (NHANES III - the National Health and Nutrition Examination Survey), koja je dopunjena podacima iz Kanadske multicentrične kohortne studije (Canadian Multicenter Cohort Study in CKD) i Studije o modifikaciji dijeta u renalnoj bolesti (MDRD - the Modification of Diet in Renal Disease). Ovaj dokument sadrži smernice kliničke prakse o evaluaciji, klasifikaciji i stratifikaciji rizika u HBB. Klasifikacija opisuje nivoe bubrežne funkcije bazirane na proceni GFR pomoću standardnih formula, kao i pogoršanje prevalencije i težine specifičnih stanja i faktora rizika (hipertenzija, anemija, abnormalnosti mineralnog metabolizma, nutriticija, kvalitet života, neurološke promene) sa progresijom HBB.

Tabela 1. Stadijumi hronične bubrežne bolesti i prevalencija u odrasloj populaciji u SAD-u

Faza	Opis	GFR, ml/min/1.73 m ²	SAD Prevalencija N (x1000)	SAD Prevalencija %
1	Oštećenje bubrega sa normalnom ili povećanom GFR	≥90	5900	3.3
2	Oštećenje bubrega sa blago sniženom GFR	60–89	5300	3.0
3	Umereno snižena GFR	30–59	7600	4.3
4	Teško snižena GFR	15–29	400	0.2
5	Insuficijencija bubrega	<15 ili dijaliza	300	0.1

Podaci za prve 4 faze studije NHANES III (1988–1994), zasnovane su na populaciji od 177 miliona osoba starosti ≥20 godina. Podaci za fazu 5 uključili su ≈230 000 pacijenata lečenih dijalizama iz USRDS (United States Renal Data System, 1998) i još 70 000 dodatnih pacijenata koji nisu na dijalizi. GFR je procenjena iz serumskog kreatinina pomoću skraćene MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study) jednačine bazirane na starosti, polu, rasi i podešavanju za serumski kreatinin. Za faze 1 i 2, bubrežno oštećenje je procenjeno na osnovu urinarnog albumin/kreatinin odnosa >17 mg/g (za muškarce) ili >25 mg/g (za žene) u 2 merenja.

U ovim smernicama, HBB se definiše kao ili (1) oštećenje bubrega koje traje ≥ 3 meseca, potvrđeno bubrežnom biopsijom ili markerima bubrežnog oštećenja, sa ili bez sniženja GFR, ili (2) kao GFR < 60 ml/min/1.73 m² koja traje ≥ 3 meseca, sa ili bez bubrežnog oštećenja (Tabela 1). Bubrežno oštećenje se dokazuje biopsijom bubrega ili markerima bubrežnog oštećenja kao što su proteinurija, abnormalnosti u urinarnom sedimentu ili morfološkim testovima. Nalaz proteinurije je povezan sa prisustvom KVB, značajan je za dijagnozu tipa bubrežnog oštećenja i udružen je sa lošom prognozom, kako za progresiju bubrežne bolesti, tako i za razvoj KVB. GFR <60 ml/min/1.73 m² je izabrana kao cut-off vrednost za definiciju HBB, jer predstavlja sniženje normalne vrednosti od ≈125 ml/min/1.73 m² kod mladih muškaraca i žena za više od 50%, a takodje je udružena sa početkom laboratorijskih abnormalnosti koje karakterišu HBB, uključujući povećanu prevalenciju i težinu nekoliko KV faktora rizika. Bubrežna insuficijencija se definiše kao GFR <15 mL/min/1.73 m² ili kao lečenje dijalizom (26).

1.1.2. EPIDEMIOLOGIJA KARDIOVASKULARNIH BOLESTI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

1.1.2.1. Epidemiološka veza između snižene GFR i neželjenih KV događaja

Brojna istraživanja sprovedena poslednjih godina sve ubedljivije pokazuju da povećanje KV rizika počinje još u ranim fazama HBB (27) usled delovanja brojnih faktora rizika, kako konvencionalnih, tako i onih koji su specifični za bubrežnu bolest. Stoga ne predstavlja iznenađenje činjenica da 40% bolesnika na početku dijaliznog lečenja ima dokaze koronarne arterijske bolesti i da 85% ovih bolesnika ima abnormalnu strukturu i funkciju leve komore (28). Hipertrofija leve komore (LVH) je najčešća strukturna abnormalnost koju nalazimo kod predijaznih bolesnika sa HBB i prevalencija LVH korelira sa stepenom funkcionalnog renalnog oštećenja. U ovoj populaciji je takodje zapažena inverzna povezanost između nivoa bubrežne funkcije i KV mortaliteta. Ustvari, većina bolesnika sa 3. i 4. stadijumom HBB ($GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$) umire češće od KVB nego od progresije u terminalnu fazu HBB (29). Pored toga, zabeležena je značajno viša stopa mortaliteta posle akutnog koronarnog sindroma kod bolesnika lečenih ponavljanim hemodijalizama nego kod transplantiranih bolesnika (30). Takodje je utvrđeno da su čak i blaži stepeni bubrežne disfunkcije udruženi sa povećanim rizikom KV mortaliteta posle infarkta miokarda (31).

KVB udružene sa renalnom bolešću u opštoj populaciji

Povezanost između bubrežne bolesti i povećanog KV rizika se opsežno razmatrala u literaturi. *Framingham*-ska studija (FHS - The Framingham Heart Study) je među prvima procenjivala povezanost blagog stepena bubrežne disfunkcije sa smrtnim ishodom i neželjenim KV događajima u opštoj populaciji. Tokom 15-godišnjeg perioda praćenja, kod muškaraca sa blagom bubrežnom insuficijencijom je zabeležen trend ka češćim KV događajima, a nakon prilagodjavanja za starost, registrovana je značajna povezanost sa ukupnim mortalitetom. Ovi nalazi su bili sugestivni, ali nisu definitivno potvrdili korelaciju između blage renalne disfunkcije i KV morbiditeta i mortaliteta (32).

Nedavno su Go i sar. istraživali povezanost GFR i neželjenih KV događaja u velikoj i raznorodnoj populaciji niskog rizika. Oni su analizirali bazu podataka koja obuhvata približno 1,1 milion odraslih osoba u severnoj Kaliforniji upotrebivši MDRD formulu za procenu GFR. Iz istraživanja su bili isključeni jedino dijalizirani i transplantirani bolesnici, a kao primarni ishodi su definisani: ukupni mortalitet, KV događaji i hospitalizacije. Završne informacije su dobijene iz baze podataka zdravstvenog plana i registra umrlih u Kaliforniji, sa prosečnim periodom praćenja od 2,84 godine. Posle prilagodjavanja za starost, pol, rasu, komorbiditete i socioekonomski status, uočeno je postepeno povećanje stope sva 3 ishoda za svako sekvencijalno smanjenje GFR. Ova opsežna studija jasno je pokazala inverznu korelaciju izmedju nivoa bubrežne funkcije i učestalosti KV morbiditeta i mortaliteta (33).

Konačno, zajednička analiza podataka iz četiri različite epidemiološke studije uključujući ARIC (the Atherosclerosis Risk in Communities Study), CHS (Cardiovascular Health Study), FHS i Offspring (Framingham Offspring Study) studiju, dosledno je potvrdila da je HBB važan faktor rizika za kombinovani ishod ukupnog mortaliteta i KVB u opštoj populaciji (34). Sve ove činjenice predstavljaju važne dokaze da su bubrežna disfunkcija ili uremija *per se* moćan prediktor KV rizika, pri čemu je teža renalna disfunkcija povezana sa većim KV rizikom. Izveštaji NKF (KDOQI/NKF - the Kidney Disease Outcomes Quality Initiative of the National Kidney Foundation) i AHA takodje naglašavaju značaj povezanosti izmedju HBB i razvoja KVB (35, 20).

1.1.2.2. Epidemiološka veza izmedju albuminurije i neželjenih KV događaja

Bubrežna bolest se može identifikovati ne samo na osnovu snižene GFR, već takodje i na osnovu prisustva abnormalnih količina albumina u urinu. Slično kao sa GFR, povezanost izmedju albuminurije i neželjenih KV događaja je prvo uočena u izraženijem slučaju makroalbuminurije (urinarni albumin:kreatinin odnos [ACR-albumin:kreatinine ratio] > 300 mg/g) i tek potom je ova povezanost proširena i na područje mikroalbuminurije (ACR, 30-300 mg/g). U poslednje vreme se uočava da KV rizik počinje da raste još unutar aktuelno definisanih granica normalnog nivoa

albuminurije (ACR<30 mg/g), tako da se urinarni albumin može smatrati kontinuiranim faktorom KV rizika, kako kod dijabetičara tako i kod osoba bez dijabetesa (36).

1.1.2.3. Epidemiološka veza između serumskog cistatina C i neželjenih KV događaja

Nedavno je otkriveno da serumski cistatin C može poslužiti kao odličan endogeni marker bubrežne funkcije. Cistatin C je cistein proteinaza molekularne težine od 13 kDa, koju proizvode gotovo sve humane ćelije i potom oslobodjaju u krv. Cistatin C se slobodno filtruje u glomerulima i metaboliše u proksimalnim tubulskim ćelijama, ali se ne sekretuje u tubule. Na vrednosti cistatina C ne utiče starost, pol ili mišićna masa i postoje dokazi koji sugerišu da ovaj marker može biti senzitivniji detektor početne renalne disfunkcije od procena GFR koje se baziraju na kreatininu (Cockcroft-Gault ili MDRD formule). Cistatin C je i bolji prediktor neželjenih KV događaja i ukupnog mortaliteta od serumskog kreatinina ili jednačina koje se baziraju na proceni serumskog kreatinina (37).

U zaključku se može reći da prisustvo renalne disfunkcije predviđa neželjene KV događaje, nezavisno od metode kojom se detektuje: procenom GFR, merenjem urinarne ekskrecije albumina ili serumskog cistatina C.

1.1.3. FAKTORI RIZIKA ZA KARDIOVASKULARNE BOLESTI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

KVB obuhvataju velikih broj različitih stanja i procesa koji se mogu identifikovati primenom savremenih dijagnostičkih metoda: koronarnu arterijsku bolest (koja se manifestuje kao angina pectoris ili infarkt miokarda), srčanu insuficijenciju, cerebrovaskularnu bolest i perifernu arterijsku bolest. Binarna kategorizacija srčanih oboljenja se zasniva na procesima koji utiču na perfuziju miokarda (ishemijski procesi), odnosno na procesima koji utiču na mišićnu funkciju miokarda (metaboličke i strukturne promene kao što su hipertrofija ili dilatacija LV). Dva procesa se uzajamno ne isključuju i mogu se pojaviti istovremeno kod bilo kog pojedinačnog bolesnika ili u specifičnim grupama bolesnika. Pored ishemijskih i neishemijskih srčanih bolesti,

značajni su aterosklerotični i arteriosklerotični procesi koji zahvatajući perifernu vaskulaturu takodje sudeluju u visokoj prevalenciji KVB kod bolesnika sa HBB (38).

Tabela 2. Tradicionalni i netradicionalni kardiovaskularni faktori rizika u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Tradicionalni faktori rizika	Netradicionalni faktori rizika
Starija životna dob	Sniženi nivo GFR
Muški pol	Proteinurija
Bela rasa	Aktivnost renin-angiotenzin sistema
Hipertenzija	Opterećenje ekstracelularnim volumenom tečnosti
Viši LDL holesterol	Abnormalni metabolizam kalcijuma i fosfora
Niži HDL holesterol	Dislipidemija
Diabetes mellitus	Anemija
Pušenje	Malnutricija
Fizička neaktivnost	Inflamacija
Menopauza	Infekcija
Psihosocijalni stres	Trombogeni faktori
Porodična istorija KVB	Oksidativni stres
Hipertrofija leve komore	Hiperhomocisteinemija
	Uremijski toksini

Faktori rizika za KVB u HBB mogu se podeliti u tradicionalne i netradicionalne faktore rizika (Tabela 2). Tradicionalni faktori rizika su definisani i provereni u opštoj populaciji kroz prospektivne kohortne studije, od kojih je najpoznatija *Framingham*-ska kohorta. Strogo uzevši, to su oni faktori rizika koji su u *Framingham*-skoj studiji upotrebljeni za procenu rizika od razvoja simptomatske ishemijske srčane bolesti. Netradicionalni faktori rizika su povezani sa HBB i mogu biti definisani kao faktori čija se prevalencija ili težina povećavaju sa opadanjem bubrežne funkcije (39). *Parfrey* i *Foley* su dalje podelili netradicionalne faktore rizika u 2 grupe: u prvu grupu spadaju ona stanja koja se mogu prepoznati kao KV faktori rizika u opštoj populaciji, ali imaju višu prevalenciju u HBB, kao što su npr povišeni nivo homocisteina ili Lp(a)

lipoproteina. Druga grupa uključuje stanja koji se javljaju kao faktori rizika primarno kod bolesnika sa HBB, kao što su npr anemija ili povišeni proizvod CaxP (40).

Većina tradicionalnih faktora rizika, kao što su starije životno doba, *diabetes mellitus*, sistolna hipertenzija, LVH i sniženi HDL (high-density lipoprotein) holesterol, je zastupljena sa visokom prevalencijom u HBB. Neki od njih, kao što su *diabetes mellitus*, starije životno doba i LVH pokazuju paralelnu povezanost sa ishodom kao u opštoj populaciji, dok su u odnosu na neke druge faktore rizika zabeležene važne razlike koje danas opisuje već široko usvojeni termin reverzne epidemiologije (41). Tako npr, povezanost ukupnog mortaliteta sa krvnim pritiskom i nivoom holesterola kod dijaliznih bolesnika je grafički prikazana krivom U-oblika (42,43). Povećani rizik mortaliteta koji opterećuje hipotenzivne bolesnike sa terminalnom fazom HBB može se objasniti kardiomiopatijom i razvojem srčane insuficijencije, a povećani rizik koji opterećuje bolesnike sa nižim nivoom serumskog holesterola malnutricijom. Interesantno je da hipertenzija predstavlja faktor rizika za razvoj LVH, srčane insuficijencije i ishemijske srčane bolesti, ali ne i mortaliteta u Kanadskoj kohorti dijaliznih bolesnika (44).

Gojaznost je takodje dobro utemeljeni faktor rizika za KVB u opštoj populaciji, dok se pothranjenost izražena pomoću nižeg BMI (body mass index) pokazala kao faktor rizika za KV mortalitet u terminalnoj fazi HBB (45). Uzroci poboljšanog preživljavanja gojaznih bolesnika na HD još uvek nisu u potpunosti rasvetljeni. Masno tkivo je važan proizvodjač različitih hormona, faktora rasta i citokina, kao što su proinflamatorni citokin TNF α (tumor necrosis factor α), angiotenzin II i leptin (46). Povećanje lokalne produkcije angiotenzina II doprinosi insulinskoj rezistenciji i razvoju metaboličkog sindroma (47). Leptin suprimira unos hrane inhibicijom neuropeptida Y i podstiče proliferišuće efekte angiotenzina II. Izgleda da su negativni efekti masnog tkiva nadvladani povoljnim efektima adekvatnog nutritivnog statusa, što se u terminalnoj fazi HBB odražava i na bolje preživljavanje (48).

U *Framingham*-skoj studiji je razvijena predikciona jednačina koja povezuje nivo tradicionalnih faktora rizika u opštoj populaciji sa verovatnoćom razvoja *de novo* koronarne bolesti. Varijable upotrebljene u ovoj jednačini bile su: starost, pol, *diabetes mellitus*, pušenje, ukupni holesterol, HDL holesterol, sistolni krvni pritisak i LVH dijagnostikovana putem EKG-a (49). Kako je pretpostavljeno da su tradicionalni faktori

rizika definisani u opštoj populaciji podjednako važni i u HBB, *Framingham*-ski skor koronarnog rizika je primenjen i na osobe sa redukovanom GFR, bolesnike koji tek započinju lečenje hemodijalizom ili peritoneumskom dijalizom, one koji se već leče redovnim dijalizama, kao i na bolesnike sa transplantiranim bubregom. Rezultat nije bio u skladu sa očekivanjima: projektovani rizik *de novo* KV događaja za osobe sa HBB bio je sličan ili tek nešto viši u poredjenju sa referentnom populacijom iz *Framingham*-ske kohorte ili iz NHANES III studije (39).

Ove studije (mada ograničene zbog svog *cross-sectional* dizajna) ukazuju da je *Framingham*-ski skor koronarnog rizika nedovoljan da objasni visoki stepen KV rizika ustanovljen kod bolesnika sa HBB. Interpretacija ovih nalaza obuhvata 2 mogućnosti. Prvo, netradicionalni faktori rizika koji nisu uključeni u *Framingham*-sku jednačinu, mogu igrati važnu ulogu u podsticanju KVB kod bolesnika sa HBB. Drugo, tradicionalni faktori rizika mogu imati kvantitativno i kvalitativno različiti model povezanosti sa KVB u populaciji bubrežnih bolesnika u poredjenju sa opštom populacijom. Na primer, osobe sa HBB mogu imati dužu i težu izloženost hipertenziji nego osobe bez HBB ili mogu biti lečene, a *Framingham*-ska jednačina rizika ne uzima u obzir dozu ili godine lečenja antihipertenzivnim lekovima (39).

Za definisanje netradicionalnih faktora rizika u populaciji bubrežnih bolesnika, trebalo bi da budu ispunjeni sledeći uslovi: (1) biološki prihvatljiv mehanizam kojim faktor može podstaći rizik KVB; (2) dokaz da nivo faktora rizika raste sa težinom bubrežne bolesti (3) dokaz povezanosti između faktora rizika i KVB u opservacionim studijama; i (4) dokaz u placebo-kontrolisanim kliničkim studijama da lečenje faktora rizika smanjuje neželjene KV ishode. Mada su uslovi 1 i 2 ispunjeni za najveći deo netradicionalnih faktora rizika navedenih u tabeli 3, kada je reč o uslovima 3 i 4 još uvek postoje mnoge praznine u literaturi koje zahtevaju dalji rad u srodnim istraživačkim oblastima i primenu novih saznanja u cilju izvodjenja definitivnih zaključaka.

U okviru ovih faktora rizika specifičnih za HBB, najčešće se pominju promene u metabolizmu kalcijuma i fosfora sa rezultirajućim sekundarnim hiperparatireoidizmom i vaskularnim kalcifikacijama, hronična ekspanzija volumena, pogoršana sinteza azot oksida (NO) sa endotelnom disfunkcijom, hiperhomocistinemija, simpatička

hiperaktivnost i insulinska rezistencija. Nekoliko netradicionalnih faktora rizika, kao što su inflamacija, oksidativni stres, hiperhomocistinemija i dislipidemija, udruženo je sa aterosklerozom i 2 novija pregledna rada su ukazala da oksidativni stres i inflamacija mogu biti primarni medijatori ili „veza koja nedostaje“ u objašnjenju ogromnog opterećenja KVB-ima u HBB (50,8). Drugi faktori, kao što je anemija, udruženi su sa kardiomiopatijom (51), dok je abnormalni metabolizam kalcijuma i fosfora povezan sa vaskularnim remodeliranjem i razvojem nekomplijantnih krvnih sudova (52).

Analiza podataka NHANES III potvrdila je višu prevalenciju anemije, hipertenzije, hiperholesterolemije, *diabetes mellitus*-a i povećanog nivoa fibrinogena, C-reaktivnog proteina i homocisteina kod bolesnika sa HBB u poredjenju sa osobama bez bubrežne bolesti (53-55).

1.1.4. SPEKTAR KARDIOVASKULARNIH BOLESTI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Primarni tipovi KVB u HBB su arterijska vaskularna bolest i kardiomiopatija. Obično se zasebno razmatraju 2 podtipa arterijske vaskularne bolesti: ateroskleroza i remodeliranje velikih krvnih sudova, ili arterioskleroza.

Ateroskleroza je primarno bolest intime, prepoznatljiva po prisustvu plakova i okluzivnih lezija, fokalna i diskontinuirana po distribuciji, pretežno zahvata sprovodne arterije srednje veličine (kao što su epikardne koronarne arterije, ilijačne i femoralne arterije, karotidni bulbus i cerebralne arterije), dok arterije mišićnog tipa ostaju pošteđene. Osnovna posledica ateroskleroze je oštećena sprovodna funkcija arterija, odnosno restrikcija protoka krvi zbog nastalih suženja i okluzija, što dovodi do ishemije ili infarkta tkiva distalno od zahvaćenih segmenata (56, 57). U HBB je visoka prevalencija ateroskleroze, a aterosklerotične lezije su često kalcifikovane i imaju povećanu debljinu medije u poredjenju sa lezijama u opštoj populaciji (58).

Surogatni markeri ateroskleroze obuhvataju debljinu intime-medije zida karotidnih arterija koja se može detektovati ultrazvukom i ishemiju miokarda koja se može detektovati koronarnim stres testovima. *Electron-beam* kompjuterizovana tomografija je senzitivni metod za detekciju vaskularnih kalcifikacija, ali se ne može smatrati idealnim metodom za detekciju ateroskleroze u HBB, jer ne može razlikovati intimalne

kalifikacije ateroskleroze od medijalnih kalifikacija koje su česte u HBB. Klinička prezentacija ateroskleroze uključuje ishemijsku srčanu bolest (odnosno anginu pectoris, infarkt miokarda i iznenadnu srčanu smrt), cerebrovaskularnu bolest, perifernu arterijsku bolest ili srčanu insuficijenciju (Tabela 3).

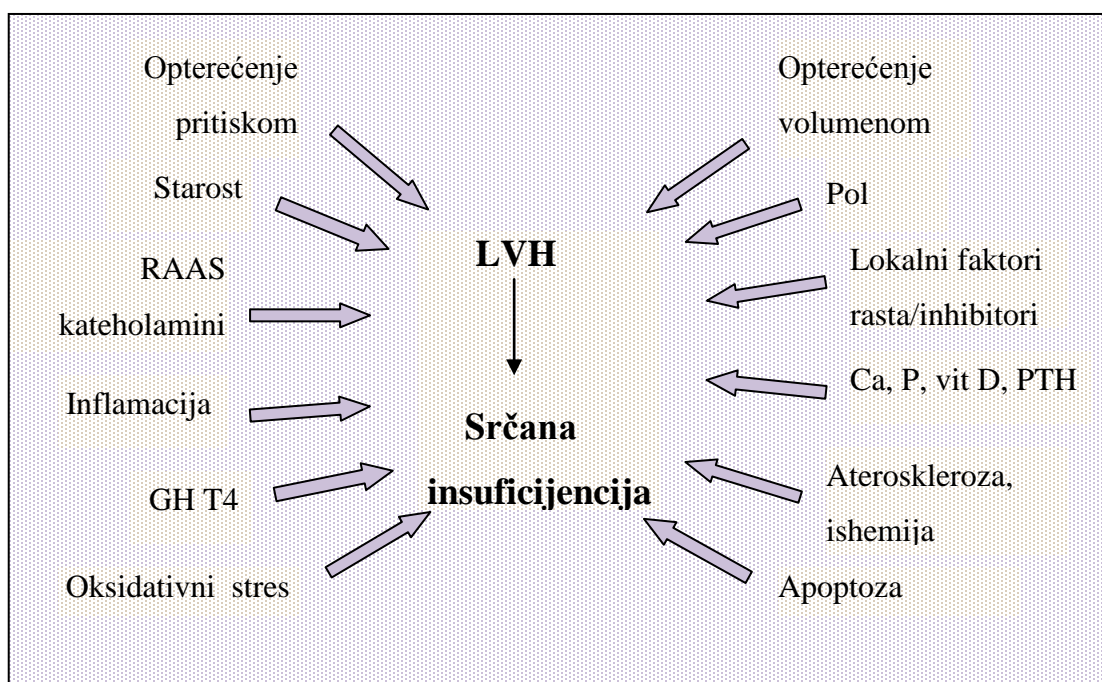
Tabela 3. Spektar kardiovaskularnih bolesti u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Tipovi KVB	Surogatni markeri	Klinička prezentacija KVB
<i>Arterijska vaskularna bolest</i>		
Ateroskleroza	- Inducibilna ishemijska - karotidna DIM - EBCT - ishemijska u EKG nalazu	Ishemijska srčana bolest (infarkt miokarda, angina, iznenadna srčana smrt), cerebrovaskularna bolest, periferna arterijska bolest, srčana insuficijencija
Arterioskleroza: dilatirani i rigidni krvni sudovi	- APWV - kalifikacija aorte - LVH (indirektno) - povećani pulsni pritisak	Ishemijska srčana bolest, srčana insuficijencija
<i>Kardiomiopatija</i>		
Koncentrična LVH i dilatacija LV sa proporcionalnom hipertrofijom	- LVH, sistolna i dijastolna disfunkcija detektovane ehokardiografijom - LVH u EKG nalazu	Srčana insuficijencija, hipotenzija, ishemijska srčana bolest
<i>DIM označava debljinu intime-medije; EBCT - electron-beam kompjuterizovana tomografija; EKG - elektrokardiogram; APWV - aortic pulse wave velocity; LVH - hipertrofija leve komore;</i>		

Bolesnici sa HBB takodje imaju visoku prevalenciju arterioskleroze i remodeliranja velikih arterija (56). Remodeliranje može biti posledica preopterećenosti pritiskom, kada se odlikuje hipertrofijom arterijskog zida i povećanjem odnosa zid/lumen, ili preopterećenosti protokom, kada se karakteriše proporcionalnim povećanjem arterijskog dijametra i debljine zida. Remodeliranje je često praćeno smanjenom arterijskom komplijansom, koja se može otkriti merenjem brzine pulsne talasa aorte (APWV - *aortic pulse wave velocity*) i karakteristične impedance. Nekomplijantni sudovi mogu dovesti do povećanog sistolnog krvnog pritiska, povećanog pulsne pritiska, LVH i smanjene koronarne perfuzije. Dokazano je da su i smanjena aortna komplijansa (59) i povećani pulsni pritisak nezavisni faktori rizika za KVB u dijaliznih bolesnika (60).

Drugi tip KVB koji se karakteriše visokom prevalencijom kod bolesnika sa HBB je kardiomiopatija (28). Hipertenzija i arterioskleroza izazivaju opterećenje pritiskom i dovode do koncentrične LVH (povećanje odnosa zid/lumen), dok anemija, ekspanzija tečnosti i arteriovenska fistula izazivaju opterećenje volumenom i primarno dovode do dilatacije leve komore sa hipertrofijom (proporcionalno povećanje mase i dijametra leve komore). Ove strukturne abnormalnosti dovode do dijastolne i sistolne disfunkcije, koje se mogu detektovati ehokardiografijom. Kardiomiopatija se klinički prezentuje srčanom insuficijencijom i ishemijskom srčanom bolešću, čak i u odsustvu arterijske vaskularne bolesti (61).

Visok rizik od razvoja KVB u HBB rezultat je aditivnog efekta brojnih faktora, uključujući hemodinamsko opterećenje, ali i neke metaboličke i endokrine faktore, manje ili više specifične za uremiju (dijagram 1). Bolest miokarda i vaskularna bolest su međusobno povezane i dele iste faktore rizika, tako da jedno stanje može voditi drugom i obrnuto.



Dijagram 1. Patogeneza kardiovaskularnih bolesti u hroničnoj bubrežnoj bolesti

1.1.4.1. Hipertrofija leve komore u HBB

1.1.4.1.1. PATOGENEZA

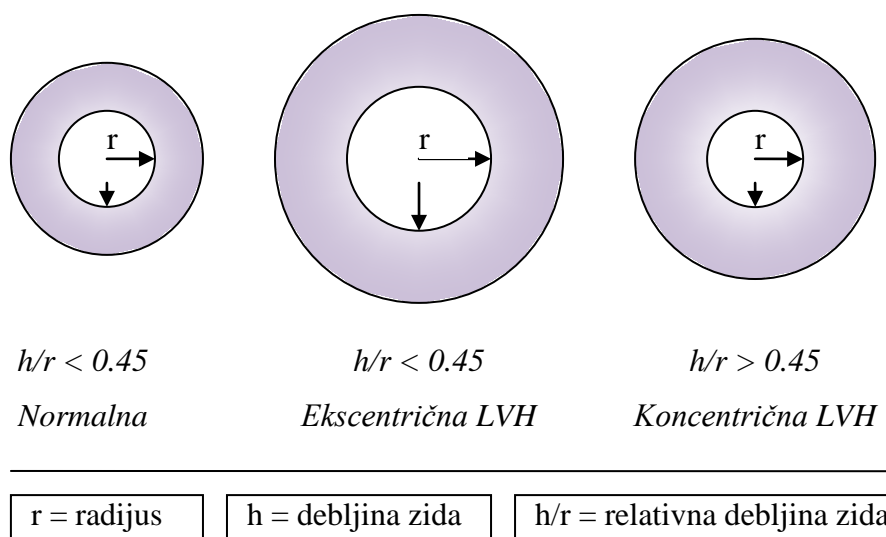
LVH je najčešći poremećaj srčane strukture i funkcije u HBB. Nastaje kao adaptivni odgovor koji prati povećanje srčanog rada usled preteranog opterećenja volumenom ili pritiskom. Rad koji srce izvrši u sistoli (srčani rad u sistoli) predstavlja proizvod pritiska leve komore i udarnog volumena. Sa srčanim radom u sistoli povećava se utrošak kiseonika u miokardu i potrošnja energije, što je direktno povezano sa promenom stresa u zidu leve komore tokom srčanog ciklusa. Prema Laplace-ovom zakonu, stres istezanja zida je direktno proporcionalan intraventrikularnom pritisku i radijusu ventrikula, a obrnuto proporcionalan debljini ventrikularnog zida, u skladu sa formulom: $\sigma = Pr/2h$. Ovaj zakon ukazuje da će se stres istezanja zida ventrikula pri datom pritisku povećati sa radijusom, i obrnuto. Posledica povezanosti pritisak-volumen-istezanje je povećanje debljine zide (hipertrofija ili remodeliranje) kojim se smanjuje istezanje nastalo tokom sistole u svakom pojedinačnom kardiomiocitu. Istezanje zida je glavni mehanički signal za remodeliranje leve komore. Povećano opterećenje leve komore volumenom ili pritiskom je takodje udruženo sa povećanim oslobadjanjem neurotransmitera, hormona, ili vazoaktivnih supstanci koje imaju direktni ili permisivni efekat na rast kardiomiocita i intersticijuma.

U početnoj fazi adaptacije na opterećenje dominiraju korisni efekti LVH, koji omogućavaju održavanje normalne sistolne funkcije. Raspodelom napregnutosti na veći broj sarkomera u LVH, smanjuje se opterećenje svakog pojedinačnog mišićnog vlakna, reguliše se srčana efikasnost i utrošak kiseonika, i povećava radni kapacitet leve komore. Međutim, trajno opterećenje vodi progresivno maladaptivnom hipertrofičnom odgovoru, koji se karakteriše dominacijom štetnih efekata sa razvojem kardiomiopatije i srčane insuficijencije (58).

U maladaptivnoj fazi hipertrofije, preopterećene aktivne ćelije miokarda odlikuje povećana brzina potrošnje energije, a nastali disbalans između potrošnje i proizvodnje energije dovodi do hroničnog energetskeg deficita i smrti miocita. Ćelijska smrt u preopterećenom ventrikulu dalje povećava opterećenje preživelih miocita, stvarajući zatvoreni krug sa posledicama u vidu kardioskleroze i srčane insuficijencije. Patogeneza

hroničnog energetskeg deficita je kompleksna, uključujući smanjenu koronarnu rezervu i ishemiju. Ove promene su delimično povezane sa strukturnim abnormalnostima intramiokardne mikrovaskulature, koje obuhvataju smanjenu kapilarnu gustinu i zadebljanje intramiokardnih arteriola, ali i sa povećanom rigidnošću aorte i velikih sprovodnih arterija.

Patohistološki supstrat LVH određen je abnormalnom ekspresijom protoonkogen, koji podstiču i regulišu ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju ne-miocita, posebno srčanih fibroblasta (57, 62). Aktivacija i proliferacija ovih ćelijskih populacija dovodi do brzog porasta sinteze kolagena i disproporcionalnog povećanja ekstracelularnog matriksa, čime se održava mehanička efikasnost srčanih kontrakcija po cenu pogoršanog dijastolnog punjenja. Povećanje miokardne fibroze je značajnije u opterećenju pritiskom nego u opterećenju volumenom i podstaknuto je faktorima kao što su: ishemija, kateholamini, angiotenzin II, aldosteron, transformišući faktori i faktori rasta. Pogoršanje dijastolne funkcije je posledica sporijeg preuzimanja kalcijuma od strane sarkoplazmatskog retikuluma, što produžava trajanje akcionog potencijala. Odložena postdepolarizacija doprinosi aritmijama, koje su takodje potpomognute sprovodnim abnormalnostima vezanim za fibrozu i veličinu hipertrofičnog srca.



Dijagram 2. Geometrijske karakteristike hipertrofije leve komore

Srčana hipertrofija se dalje razvija na način uslovljen vrstom mehaničkog stresa. Opterećenje pritiskom dovodi do paralelnog dodavanja novih sarkomera, sa disproporcionalnim povećanjem debljine komorskog zida pri normalnom radijusu šupljine i sa povećanjem odnosa između debljine zida i radijusa leve komore ($h/r > 0,45$; koncentrična hipertrofija). Opterećenje volumenom dovodi primarno do dodavanja novih sarkomera u seriji sa sekundarnim dodavanjem sarkomera u paralelnom nizu, što se manifestuje uvećanjem komorske šupljine i povećanjem debljine zida koje je taman dovoljno da čini protivtežu povećanom radijusu ($h/r < 0,45$; ekscentrična hipertrofija), dijagram 1 (58). Kod bolesnika sa HBB, LVH se razvija kao rezultat istovremenog opterećenja pritiskom i volumenom, pa zato kombinuje karakteristike koncentrične i ekscentrične hipertrofije (28).

1.1.4.1.2. OPTEREĆENJE VOLUMENOM

Hronično opterećenje volumenom u HBB manifestuje se umerenim povećanjem end-dijastolnog dijametra leve komore i nastaje kao posledica delovanja 3 glavna faktora: retencije soli i vode, arteriovenske (AV) fistule i anemije (28).

Hiperhidratacija doprinosi patogenezi LVH u HBB izazivajući povećano opterećenje volumenom. Unutrašnje dimenzije leve komore, end-dijastolni pritisak i udarni volumen su direktno povezani sa volumenom cirkulišuće krvi (57). Smanjenje cirkulišućeg volumena tokom dijalizne sesije dovodi do smanjenja dijametra leve komore i minutnog volumena, i utvrđena je direktna korelacija između promena interdijalizne telesne težine i mase leve komore, kao i udarnog volumena (63). Ultrafiltracijom i redukovanim unosom soli, kod bolesnika na HD može se postići regresija LVH (64).

AV fistula snižava perifernu rezistenciju, pri čemu se visina krvnog pritiska održava zahvaljujući povećanju minutnog volumena, preko povećane srčane frekvence i udarnog volumena. Ove promene izazivaju povećanje dijametra i mase leve komore, koje značajno korelira sa protokom AV fistule. Kao dugoročna komplikacija AV fistule može nastati kardiomegalija sa stanjem hiperdinamske cirkulacije, ali simptomatska srčana insuficijencija se obično javlja samo na tlu preegzistentnog srčanog oboljenja (57).

Anemija je praćena strukturnim i funkcionalnim promenama KV sistema, koje su primarno adaptivnog karaktera, jer imaju za cilj da održe dopremanje kiseonika do perifernih tkiva i organa. Održavanje adekvatne oksigenacije tkiva se postiže hemodinamskim i nehemodinamskim adaptacijama. Nehemodinamske adaptacije uključuju niži afinitet hemoglobina za kiseonik i povećano oslobađanje kiseonika na nivou perifernih tkiva. Najznačajnija hemodinamska promena je povećanje minutnog volumena koje nastaje udruženim dejstvom povećanog udarnog volumena i povećane srćane frekvence. Za stanje hiperdinamske cirkulacije odgovorni su sledeći mehanizmi:

- Smanjenje afterload-a usled smanjenja sistemske vaskularne rezistencije
- Povećanje preload-a usled povećanja venskog priliva
- Povećanje funkcije leve komore usled povećanja simpatičke aktivnosti i ne cateholaminskih inotropnih faktora (65).

Vaskularna rezistencija se smanjuje kao rezultat arterijske dilatacije i smanjenog viskoziteta krvi. Arterijska dilatacija je izazvana povećanjem arterijskog dijametra, regrutovanjem novih krvnih sudova i formiranjem kolateralna i arteriovenskih šantova, dok je smanjeni viskozitet krvi direktna posledica smanjenog broja eritrocita. Venski priliv se povećava zbog: a) smanjenog viskoziteta krvi; b) arterijske dilatacije koja olakšava prenos pritiska iz arterijskog sistema u vensku cirkulaciju, čime se gradi povoljan gradijent pritiska za povratak venske krvi; c) povećane simpatičke aktivnosti koja bi teoretski mogla izazivati aktivnu venokonstrikciju, favorizujući srćano punjenje. Povećane ventrikularne performanse mogu rezultirati iz povećanja preload-a (Frank-Starling-ov mehanizam) i iz povećane simpatičke aktivnosti koja je praćena pozitivnim inotropnim efektom. Veliki venski priliv i veliki minutni volumen izazivaju dugotrajno povećanje srćanog rada koje vodi progresivnom povećanju srćanih šupljina i razvoju ekscentrićne hipertrofije leve komore (66).

1.1.4.1.3. OPTEREĆENJE PRITISKOM

Kod bolesnika sa uznapredovalom fazom HBB, LVH je usko povezana sa sistolnim ili pulsним pritiskom. Sistolni krvni pritisak i pulsni pritisak su uprošćeni markeri pritiska punjenja i rezultat su interakcije između kardijalnih faktora (udarni volumen, ejakcija) i

faktora koji se suprostavljaju ejejkciji leve komore. Arterijski faktori koji se suprostavljaju ejejkciji leve komore obuhvataju: a) perifernu rezistenciju; b) otvrdnuće aorte i velikih centralnih arterija; c) intenzitet i vreme refleksije udarnog talasa: d) silu inercije uslovljenu masom krvi u aorti i levoj komori. Periferna rezistencija, srednji i dijastolni krvni pritisak često su povećani već od početne faze HBB. Medjutim, sa pogoršanjem anemije i kreiranjem AV fistule, periferna rezistencija se smanjuje i glavni faktori koji se suprostavljaju komorskoj ejejkciji postaju arterijsko otvrdnuće i rano vraćanje odbijenog talasa (67). Arterijsko otvrdnuće i rana refleksija udarnog talasa su glavne determinante sistolnog i pulsog pritiska kod bolesnika sa terminalnom fazom HBB i udružene su sa LVH (68). Promene arterijske funkcije u terminalnoj fazi HBB posledica su arterijskog remodeliranja koje uključuje dilataciju velikih elastičnih arterija, hipertrofiju intime-medije, kao i prisustvo arterijskih kalcifikacija i povećanje kalcijumskih depozita u mediji (57, 52).

Remodeliranje velikih arterija se zasniva na hemodinamskim promenama, pre svega na stresu istezanja i stresu smicanja. Prema Laplace-ovom zakonu, stres istezanja (σ) je direktno proporcionalan arterijskom transmuralnom pritisku (P) i radijusu (r), a obrnuto proporcionalan debljini arterijskog zida (h), u skladu sa formulom: $\sigma = Pr/h$. U odgovoru na povećani arterijski pritisak ili arterijski prečnik, stres istezanja se održava unutar fizioloških granica zahvaljujući zadebljanju zida. Promene u protoku krvi menjaju stres smicanja ("shear" stres, τ), koji je direktno proporcionalan protoku (Q) i viskozitetu krvi (η), a obrnuto proporcionalan radijusu (r) krvnog suda u skladu sa formulom: $\tau = Q\eta/r^3$. Promene stresa istezanja i smicanja su medjusobno povezane, jer svaka promena arterijskog radijusa uzrokovana promenom stresa istezanja, indukuje promene u stresu smicanja. Karakteristike arterijskog remodeliranja će zavisiti od prirode hemodinamskih stimulusa koji deluju na zid krvnog suda. Kako arterijski sistem i LV čine jednu funkcionalnu celinu, isti su hemodinamski faktori odgovorni za odvijanje paralelnih promena u srcu i u krvnim sudovima (57).

Osim opterećenja pritiskom, koncentrična LVH i povećana debljina zida leve komore mogu biti uplivisane i nehemodinamskim faktorima kao što su kateholamini i simpatička aktivnost (69). Vodeći nalaz u uremičnoj kardiomiopatiji je intersticijalna fibroza, a ona je naročito značajna u opterećenju pritiskom koje je praćeno aktivacijom sistema renin-angiotenzin-aldosteron. Neki humoralni faktori sa autokrino-parakrinom

funkcijom (endotelin, natriuretski peptidi, ADMA) takodje mogu uzeti učešće u hipertrofičnom procesu (57).

1.1.4.1.4. POREMEĆAJI FUNKCIJE LEVE KOMORE

Promene vaskularnog volumena i humoralnih parametara utiču na sistolnu i dijastolnu funkciju, pa često komplikuju procenu funkcije leve komore kod bolesnika sa terminalnom fazom HBB (a naročito kod bolesnika na HD). To je razlog što kod ovih bolesnika nije uvek lako razlikovati kongestivnu srčanu insuficijenciju usled pogoršanja funkcije miokarda od cirkulatorne prepunjenosti usled opterećenja volumenom. Ponekad se znaci staze i akutnog edema pluća mogu javiti kao posledica izolovane dijastolne disfunkcije, iako je sistolna funkcija normalna.

Kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB bez prethodnog srčanog oboljenja, indeksi sistolne funkcije su obično normalni ili čak lako povećani. Sistolna funkcija se održava na normalnom ili povećanom nivou zahvaljujući delovanju nekoliko mehanizama koji uključuju povećani pritisak punjenja leve komore (Starlingovi mehanizmi), povećanu simpatičku aktivnost i prisustvo jedne ili više supstanci koji povećavaju snagu mišićne kontrakcije (inhibicijom Na-pumpe). Dijastolno punjenje je takodje često izmenjeno kod dijaliznih bolesnika. Povećana krutost leve komore se karakteriše snažnom uzajamnom zavisnošću volumena i pritiska punjenja leve komore. Stoga, već blago povećanje volumena leve komore može izazvati stazu na plućima, dok blago smanjenje volumena može izazvati značajno smanjenje pritiska punjenja, sistemsku hipotenziju i hemodinamsku nestabilnost (57).

1.1.4.2. Ishemijska bolest srca (aterosklerotični procesi)

Podaci koji se odnose na ishemijsku bolest srca i aterosklerotične procese u populaciji bolesnika sa HBB su ograničenog obima zbog nedoslednog izveštavanja, različitih definicija i nepostojanja angiografskih dokaza kod svih bolesnika sa dijagnostikovanom bubrežnom bolešću. Medjutim, zahvaljujući kohortama koje su praćene kao deo opservacionih studija ili kao početne kohorte u kontrolisanim kliničkim studijama, postalo je jasno da približno 30-40% svih bolesnika vidjenih od strane nefrologa ima istoriju ishemijske bolesti srca (angine pectoris ili infarkta miokarda) (38).

1.1.4.3. Kongestivna srčana insuficijencija

Miokardiopatija zbog opterećenja i ishemijska srčana bolest su 2 glavna uzroka srčane insuficijencije u HBB. Dijagnoza srčane insuficijencije je često izazov kod dijaliznih bolesnika, jer se retencija soli i vode može rešavati visokom ultrafiltracijom u toku dijalize, ostavljajući nekarakteristične znake i simptome kao što su smanjenje krvnog pritiska, mučnina i anoreksija, ponekad kao jedini putokaz. Sa druge strane, retencija soli i vode može odražavati neadekvatnu ultrafiltraciju pre nego srčanu insuficijenciju, ili kombinaciju srčane insuficijencije i neadekvatne ultrafiltracije. Postojeću situaciju komplikuje činjenica da je jedan od glavnih uzroka neadekvatne ultrafiltracije na HD hipotenzija, koja može biti manifestacija srčane insuficijencije. S obzirom da je srčana insuficijencija moćan faktor rizika za neželjene KV događaje kod dijaliznih bolesnika, izgleda da se ona češće pojavljuje kao odraz preegzistentne KVB, nego neadekvatne ultrafiltracije (57, 61).

Još uvek raspoložemo oskudnim podacima o karakteristikama kongestivne srčane insuficijencije kod bolesnika u predijaliznoj fazi HBB.

1.1.5. PREVALENCIJA KARDIOVASKULARNIH BOLESTI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

KVB su u vrlo izraženoj meri zastupljene već prilikom uvođenja dijalize u terapiju HBB. Prema prospektivnoj Kanadskoj studiji iz ranih devedesetih godina prošlog veka, kliničke manifestacije KVB su bile visoko prevalentne na početku dijalizne terapije: 14% bolesnika je imalo koronarnu bolest, 19% je imalo anginu pectoris, 31% srčanu insuficijenciju i 8% perifernu vaskularnu bolest (28). Od onih koji na početku nisu imali srčanu insuficijenciju, 25% je razvilo srčanu insuficijenciju tokom daljeg dijaliznog lečenja, a 56% pacijenata sa srčanom insuficijencijom na početku studije, imalo je rekurentnu srčanu insuficijenciju tokom narednog perioda praćenja (61). Ehokardiografski, 74% bolesnika je imalo LVH, 32% je imalo dilataciju LV i 15% je imalo sistolnu disfunkciju (28). I druge studije preseka pokazale su slične nalaze u dijaliznoj populaciji (70, 71). Međutim, ove studije su proučavale uglavnom bolesnike na HD. Novije istraživanje *cross-sectional* dizajna sprovedeno u homogenoj kohorti bolesnika na PD otkrilo je čak višu prevalenciju LVH kod ovih bolesnika, približno

95% (23). Prevalencija dijastolne disfunkcije na početku dijalizne terapije nije jasno definisana, ali je s obzirom na učestalost LVH kod ovih bolesnika verovatno isto tako visoka. U drugom prospektivnom istraživanju koje je obuhvatilo preko 4000 bolesnika na početku dijaliznog lečenja u SAD-u između 1996 i 1997. godine, istorija srčane insuficijencije je zabeležena kod 35% bolesnika, koronarne bolesti kod 32% bolesnika, periferne vaskularne bolesti kod 17% bolesnika i cerebrovaskularne bolesti kod 10% bolesnika, tako da je sveukupno posmatrano čak 52% bolesnika imalo klinički ispoljenu KVB (72). Treba istaći da se progresivno srčano uvećanje, naročito dilatacija LV sa kompenzatornom hipertrofijom, nastavlja i nakon započinjanja dijalizne terapije. Izgleda da se uvećanje srca u najvećoj meri razvija tokom prve godine dijaliznog lečenja (73). Modalitet dijalize (HD u poredjenju sa PD) i anemija su bile udružene sa progresivnim uvećanjem LV samo u prvoj godini dijaliznog lečenja, dok je nakon toga srčano uvećanje bilo nezavisno od anemije, krvnog pritiska, serumskog albumina i modaliteta dijalize (73).

Saznanje da bolesnici već u predijaliznoj fazi HBB imaju povećani rizik od KVB i njenih komplikacija, izazvala je veliko interesovanje za međusobnu povezanost stepena renalne disfunkcije i KV rizika. Serumski kreatinin veći od 1,5 mg/dL je bio snažan prediktor KVB još u HDFP studiji (the Hypertension Detection and Follow-up Program), koja je pratila isključivo bolesnike sa hipertenzijom (74). Kasnije su Levin i saradnici procenili da zavisno od nivoa bubrežne funkcije 25-50% bolesnika u III i IV stadijumu HBB ima LVH, dok podaci o prevalenciji ishemijske srčane bolesti i srčane insuficijencije u toj populaciji nisu bili dostupni (20, 29). Prevalencija LVH je inverzno povezana sa nivoom GFR, pa je ehokardiografskim pregledima bilo ustanovljeno da 45% bolesnika sa klirensom kreatinina <25% ima LVH, 31% bolesnika sa klirensom kreatinina od 25-50% i 27% bolesnika sa klirensom većim od 50% (29), nasuprot prevalenciji LVH od 20% u opštoj populaciji srodne starosti (75). Tokom poslednje decenije je takodje dokumentovana povezanost između angiografski dokazane koronarne bolesti i nivoa bubrežne funkcije. Tako je kod žena koje su bile podvrgnute angiografiji zbog bolova u grudnom košu, povećani nivo kreatinina od 1,2 do 1,9 mg/dL bio nezavisni prediktor angiografski signifikantne koronarne bolesti, koja se definiše luminalnim suženjem većim od 50% (76). Sve sakupljene činjenice iz prethodnih godina navele su NKF, AHA i Nacionalni komitet za prevenciju, detekciju, evaluaciju i

lečenje visokog krvnog pritiska (the Seventh Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation & Treatment of High Blood Pressure) da klasifikuju HBB kao jedan od KV faktora rizika (20, 26, 77).

1.1.6. PROGNOŠTIČKA VREDNOST KARDIOVASKULARNIH BOLESTI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Hipertrofija i dilatacija LK su važni prediktori neželjenih ishoda u dijaliznoj populaciji (28, 62). Postoje dokazi da je smanjenje dimenzija LV udruženo sa poboljšanjem KV ishoda, dok je povećanje indeksa mase LV (LVMI) od prediktivnog značaja za veći broj neželjenih KV događaja kod bolesnika na HD (70,71). Ovi podaci ukazuju da LVH karakteriše dvojnoprivredna priroda markera (prediktora) KV rizika sa jedne strane, i KVB (stanja) *per se* sa druge strane. Nedavno je utvrđeno da su prisustvo inflamacije, gubitak rezidualne bubrežne funkcije i LVH međusobno povezani i da njihovo istovremeno prisustvo povećava više od šest puta rizik ukupnog mortaliteta i više od pet puta rizik KV mortaliteta kod bolesnika na PD (23). Pored toga, nedavno se pokazalo da sistolna disfunkcija LV, definisana primenom kompjuterizovane tomografije kao ejskciona frakcija (EF) < 40%, predskazuje povećani mortalitet u populaciji dijaliznih bolesnika koji čekaju transplantaciju bubrega. U multivarijantnim modelima je dokazano da bolesnici sa sistolnom disfunkcijom imaju 2 puta viši rizik mortaliteta nego oni sa normalnom sistolnom funkcijom, nakon prilagodjavanja za faktore rizika koji uključuju *diabetes*, LVH i ishemiju (78). Ovi rezultati su u skladu sa prethodnom studijom Zoccali-ja i saradnika kojom je potvrđena prognostička vrednost ehokardiografski determinisane sistolne disfunkcije LV, nezavisno od drugih faktora rizika, za fatalne i nefatalne KV događaje kod asimptomatskih bolesnika u terminalnom stadijumu HBB (71).

Ishemijska srčana bolest i srčana insuficijencija su takodje povezane sa višim stopama smrtnosti kod dijaliznih bolesnika (61, 79-80). Težina koronarne ateroskleroze verifikovane koronarnom angiografijom kratko nakon započinjanja dijalize se izdvojila kao snažan prediktor mortaliteta (81). Prema prospektivnoj studiji objavljenoj sredinom devedesetih godina prošlog veka, sistolna disfunkcija, ishemijska srčana bolest, starije životno doba i *diabetes mellitus* su bili značajni faktori udruženi sa srčanom

insuficijencijom na početku dijaliznog lečenja. Prisustvo ishemijske srčane bolesti i sistolne disfunkcije su, pored anemije i hipoalbuminemije, bili nezavisni i značajni faktori rizika za ponavljanje srčane insuficijencije (61). Pored toga, pokazalo se da je povećanje mase LV i pogoršanje sistolne funkcije praćeno serijskim ehokardiografskim pregledima, godinu dana nakon započinjanja dijalize bilo udruženo sa povećanom verovatnoćom kasnije srčane insuficijencije. Ova povezanost je bila nezavisna od starosti, *diabetes mellitus*-a, ishemijske srčane bolesti i drugih bazalnih ehokardiografskih parametara (82).

Već je istaknuto da bolesnici sa HBB i pre početka dijalizne terapije imaju veći rizik KV mortaliteta u odnosu na opštu populaciju (20, 29, 31-35). Zajednička analiza podataka iz ARIC, CHS, FHS, and Offspring studije je takodje pokazala da je LVH, sama ili u kombinaciji sa anemijom, udružena sa povećanim rizikom primarnog ishoda definisanog kao kompozitni skor infarkta miokarda, cerebrovaskularnog insulta i smrti, i sekundarnog kardijalnog ishoda koji je uključio samo infarkt miokarda i fatalnu koronarnu bolest (83). Kod predijaliznih bolesnika sa HBB kalcifikacije koronarnih arterija dijagnostikovane pomoću *multislice* kompjuterizovane tomografije bile su udružene sa KV događajima, hospitalizacijama i mortalitetom, dok su teške koronarne kalcifikacije bile prediktor KV događaja i hospitalizacija (84). Međutim, u populaciji predijaliznih bolesnika koji su podvrgnuti koronarnoj angiografiji zbog suspektne ishemijske miokarda, niža EFLV procenjena ventrikulografijom je bila značajan nezavistan prediktor ukupnog mortaliteta, bez obzira na prisustvo koronarne arterijske bolesti (85). Kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom i hroničnom bubrežnom insuficijencijom (GFR <60 ml/min), pronađena je povezanost između relativnog rizika mortaliteta i EFLV, pri čemu je mortalitet bio viši kod bubrežnih bolesnika sa dijastolnom nego sa sistolnom srčanom insuficijencijom (86). Studije koje istražuju prognostičku vrednost KVB u ranijim fazama HBB još su daleko malobrojnije u odnosu na studije koje bave ovom istraživačkom oblašću u dijaliznoj populaciji.

1.2. KARDIJALNI BIOMARKERI

1.2.1. DEFINICIJA, KLASIFIKACIJA I OSOBINE BIOLOŠKIH MARKERA

Termin biomarker (biološki marker) je prvi put uveden u upotrebu 1989. godine kao "Medical Subject Heading" termin, a po definiciji to su "merljivi biološki parametri koji se mogu kvantifikovati (tj. koncentracija specifičnog enzima, koncentracija specifičnog hormona, distribucija fenotipa specifičnog gena u populaciji, prisustvo bioloških supstanci) i koji služe kao indeks zdravstvene ili fiziološke procene, kao što su rizik bolesti, psihijatrijski poremećaji, izlaganje životnoj sredini i njenim uticajima, dijagnoza bolesti, metabolički procesi, zloupotreba supstanci, trudnoća, razvoj ćelijskih linija, epidemiološke studije, itd " (87). Radna grupa američkog Nacionalnog instituta za zdravlje (National Institutes of Health) je 2001. godine dalje standardizovala definiciju biomarkera kao "karakteristiku koja se objektivno meri i procenjuje, te služi kao indikator normalnog biološkog procesa, patogenog procesa ili farmakološkog odgovora na terapijsku intervenciju" i definisala tipove biomarkera (88). Biomarkeri se mogu meriti u biološkim uzorcima (krv, urin ili tkivo), mogu se dobiti u vidu zabeleženog snimka (krvni pritisak, EKG ili Holter) ili u vidu slikovitih prikaza (ehokardiogram ili CT sken). Najjednostavnije je razmišljati o biomarkerima kao pokazateljima karakteristika bolesti (faktori rizika ili markeri rizika), stanja bolesti (preklinička ili klinička) i brzine napredovanja bolesti (progresije) (89). U skladu sa tim, biomarkeri se mogu klasifikovati kao antecedentni (identifikuju rizik od razvoja bolesti), skrining biomarkeri (skrining subkliničkih bolesti), dijagnostički biomarkeri (prepoznaju ispoljenu bolest), stejdžing biomarkeri (kategorišu težinu bolesti), ili prognostički biomarkeri (predviđaju budući tok bolesti, uključujući rekurentnost i odgovor na terapiju, i prate efikasnost terapije) (88).

Od kardijalnog biomarkera se uopšteno očekuje da poboljša sposobnost kliničara za optimalno vođenje bolesnika u praksi. Nezavisno od svrhe primene, novi biomarker će biti klinički upotrebljiv ako je precizan i reproducibilan, ako se dobija na standardizovan i jednostavan način, ako je prihvatljiv za bolesnika i lak za kliničku interpretaciju, ako ima visoku senzitivnost i visoku specifičnost za očekivani ishod, ako objašnjava prihvatljivu proporciju ishoda dosledno u multiplim studijama, nezavisno od

utemeljenih prediktora i ako postoje dokazi koji ukazuju da poznavanje nivoa biomarkera menja kliničko vodjenje bolesnika (90). Željene osobine biomarkera variraju zavisno od planirane upotrebe. Za skrining biomarkere, važne osobine su visoka specifičnost, senzitivnost, prediktivna vrednost i količnik verodostojnosti (likelihood ratio) uz nisku cenu, dok su za dijagnostičke markere akutne srčane bolesti pored pomenutih karakteristika kritične osobine i brzi kontinuirani porast, visoka tkivna specifičnost, oslobadjanje proporcionalno stepenu bolesti i mogućnost neposrednog odredjivanja i brzog dobijanja rezultata (point-of-care testing) (91). Za biomarkere koji prate progresiju bolesti ili odgovor na terapiju, poželjne osobine su uska intraindividualna varijacija i striktno praćenje ishoda bolesti ili terapije, tako da bi već male promene nivoa biomarkera trebalo da odražavaju stvarne promene kliničkog stanja bolesnika. Utvrđivanje prognostičke koristi biomarkera je izazovnije jer zahteva veći uzorak i prospektivni dizajn, dok je za dokazivanje dijagčnostičke vrednosti testova dovoljan manji uzorak i *cross-sectional* dizajn (92).

Imajući u vidu ekscesivan ukupni i KV mortalitet medju bolesnicima sa terminalnom fazom HBB, identifikacija kardijalnih biomarkera koji su korisni za profilisanje KV rizika može omogućiti ranu identifikaciju visokorizičnih, vulnerabilnih bolesnika koji su kandidati za raniju, aktivnu preventivnu i terapijsku intervenciju i posledično, može poboljšati ishod ovih bolesnika.

1.2.2. NATRIURETSKI PEPTIDI

1.2.2.1. Tipovi natriuretskih peptida

Familija natriuretskih peptida se sastoji od 4 strukturno slična, ali genetski različita molekula sa izraženim kardiovaskularnim i renalnim dejstvom. To su kontraregulatorni hormoni koji igraju važnu ulogu u homeostazi volumena telesnih tečnosti. Atrijalni natriuretski peptid (ANP) i B-tip natriuretskog peptida - BNP uzrokuju diurezu, natriurezu i vazodilataciju. C-tip natriuretskog peptida (CNP) ispoljava antimitogene efekte i uzrokuje relaksaciju glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova. Dendroaspis natriuretski peptid (DNP) ima mnoga zajednička svojstva sa ANP-om i BNP-om, ali njegova uloga u humanoj fiziologiji još uvek nije u potpunosti razjašnjena (93). Pored glavnih članova ove familije, tu spada i urodilatin (poznat kao renalni natriuretski

peptid), adrenomedulin i mnoštvo drugih peptida sa ulogom u regulaciji telesnog volumena, kao što su gvanilin, urogvanilin, melanocitni stimulirajući hormon i endogeni faktor sličan ouabainu (94, 95).

Sinteza i oslobađanje ovih hormona su stimulisani različitim promenama sistemskog krvnog pritiska, kao i povećanjem ekstracelularnog volumena i narušavanjem balansa natrijuma. Oni ispoljavaju mnoga endokrina i parakrina dejstva u srcu, mozgu, bubrezima, vaskulaturi i nadbubrežnim žlezdama. Međutim, njihova glavna uloga je da indukuju natriurezu delujući na renalnu hemodinamiku i tubularnu funkciju. Drugi efekti natriuretskih peptida uključuju vazodilataciju, smanjenje simpatičke dominacije, inhibiciju oslobađanja arginin-vazopresina i inhibiciju oslobađanja aldosterona. Kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB njihova uloga u izazivanju natriureze je ograničena, ali još uvek imaju značajnu hemodinamsku ulogu zahvaljujući plejotropnim efektima na krvne sudove, simpatički nervni sistem i nadbubrežne žlezde (94, 95). Pored učesća u kardioresnalnoj regulaciji, ANP i BNP takodje služe kao markeri izmenjene strukture i funkcije miokarda, kao i markeri sveukupne prognoze (96).

1.2.2.2. Otkriće i struktura natriuretskih peptida

Interesovanje za natriuretske peptide počinje od pedesetih godina prošlog veka, kada su otkrivene male sekretorne granule vezane za ćelijsku membranu u srčanim pretkomorama zamorčeta (97). De Bold sa saradnicima je 1981. godine ubrizgavao homogenizovano tkivo srčanih pretkomora pacovima, i zabeležio povećanu diurezu i natriurezu (98). Supstanca odgovorna za ovaj efekat je kasnije nazvana ANP i strukturno je identifikovana 1984. godine (99). Četiri godine kasnije, iz mozga svinja je izolovano jedinjenje sa sličnim natriuretskim i diuretskim svojstvima (100). Mada je jedinjenje nazvano B tip (brain) natriuretskog peptida, kasnije je utvrđeno da primarno mesto sinteze BNP-a ipak nije mozak, već miokard srčanih komora (101). 1990. godine je identifikovan treći član familije, CNP, takodje u mozgu svinja (102). CNP se strukturno razlikuje od ANP-a i BNP-a, i u znatno većem stepenu je eksprimovan u centralnom nervnom sistemu i krvnim sudovima, nego u srcu (103). Poslednji član familije, DNP, izolovan je 1992. godine iz otrova zmijske zelene mambe (*Dendroaspis*

angusticeps) (104). Ova otkrića su, dokazujući humoralnu vezu između srca i bubrega, definitivno potvrdila pretpostavku da je srce endokrini organ.

Natriuretski peptidi ANP, BNP, CNP i DNP imaju zajedničku prstenastu strukturu koja se sastoji od 17 aminokiselina (AK) sa disulfidnim mostom između susednih cisteinskih rezidua (93). Strukturna divergencija među peptidima je uglavnom ograničena na razlike u aminoterminalnim i karboksiterminalnim delovima i verovatno igra važnu ulogu u diferenciranju funkcije pojedinih peptida (95).

1.2.2.3. Sinteza i oslobađanje natriuretskih peptida

Glavni stimulus za oslobađanje natriuretskih peptida je povećanje volumena ekstracelularne tečnosti, koje se registruje pomoću atrijalnih (ANP) i ventrikularnih (BNP) receptora na istezanje, ali i putem povećanog stresa smicanja na koji reaguju endotelne ćelije krvnih sudova (CNP) (95). I ANP i BNP se sintetišu kao aminokiselinski prekursori proteina, i podvrgavaju se intracelularnoj modifikaciji do prohormona (11).

Glavni stimulus za oslobađanje ANP-a je istezanje ili distenzija pretkomora, što se u kliničkim studijama manifestuje direktnom povezanošću između atrijalnog pritiska i koncentracije ANP-a u plazmi (105). Pored stimulisanja sekrecije prethodno sintetisanog ANP-a koji je deponovan u sekretornim granulama, atrijalno istezanje takodje brzo vodi povećanju transkripcije gena za ANP i porastu mRNA (106). ANP se primarno sintetiše kao preproANP (sadrži 151 AK). Posle otcepljenja signalnog peptida, prekursor proANP (126 AK) se deponuje u atrijalnim granulama i prilikom oslobađanja u cirkulaciju cepa u N-terminalni fragment (NT-proANP) od 98 aminokiselina i C-terminalni fragment (ANP) od 28 aminokiselina. Fiziološki aktivan hormon je ANP. NT-proANP se može razložiti u manje fragmente koji imaju diuretičke, natriuretičke i vazodilatatorne efekte (11, 107-108).

BNP se razlikuje od ANP-a po tome što nije deponovan u sekretornim granulama, te njegovo oslobađanje zavisi od kontinuirane transkripcije i translacije njegovih gena. Ekspresija gena za BNP se vrlo brzo povećava u odgovoru na prikladni stimulus (109) i BNP se sintetiše u obliku aminokiselinskog prekursora proteina koji sadrži 134 AK (preproBNP). Posle otcepljenja signalnog peptida, ostaje prohormon (proBNP) koji

sadrži 108 aminokiselina. Prilikom oslobađanja u cirkulaciju, on se cepa u ekvimolarnim količinama na biološki aktivan BNP koji sadrži 32 aminokiseline (C-terminalni fragment) i biološki inaktivan N-terminalni fragment (NT-proBNP) koji sadrži 76 aminokiselina (11,107-108). Razlika u sekretornom obrascu između ANP-a i BNP-a se odražava u različitoj vrednosti ovih hormona kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom, pri čemu je BNP bolji pokazatelj mase i punjenja leve komore, dok ANP u većoj meri odražava stanje volumena ekstracelularne tečnosti (110).

Mada je koncentracija ANP-a više povezana sa pritiskom leve pretkomore, a koncentracija BNP-a sa indeksima volumena i pritiska LV, postoje izvesna preklapanja u odnosu na mesto sinteze i oslobađanja ovih hormona (110-111). Tako se BNP oslobađa u malim količinama iz atrijalnog tkiva (112) i skladišti zajedno sa ANP-om u atrijalnim sekretornim granulama (113). Kod bolesnika sa infarktom miokarda ili disfunkcijom LV, ANP se može oslobađati istovremeno u velikim količinama iz atrijalnog i ventrikularnog tkiva (114-115). Iako je istezanje miocita primarni regulator oslobađanja ovih hormona, njihova sinteza može biti pojačana tahikardijom, glikokortikoidima, tireoidnim hormonima i vazooaktivnim peptidima kao što su endotelin-1 i angiotenzin II, nezavisno od hemodinamskih efekata ovih faktora (11).

1.2.2.4. Klirens natriuretskih peptida

Do sada su identifikovane 3 vrste receptora za natriuretske peptide: NPR-A, NPR-B i NPR-C. Vezivanje natriuretskih peptida za A i B receptore na površini ciljnih ćelija vodi formiranju sekundarnog mesendžera cikličnog guanozin monofosfata (cGMP), koji posreduje većinu bioloških efekata natriuretskih peptida (94, 116). Molekularna konfiguracija ovih receptora je predstavljena ekstracelularnom mestom vezivanja natriuretskih peptida, jednom transmembranskom sekvencom i intracelularnim domenom koji se sastoji od kinaza-homologog regulatornog domena i katalitičkog domena gvanilin-ciklaze (117). Receptori su locirani u takvim efektornim organima kao što su bubrezi (glomerul i unutrašnji medularni sabirni duktusi), mozak, pluća i aorta (94, 116). Na dejstva natriuretskih peptida mnogo utiče afinitet specifičnih receptora za različite peptide. Tako, NPR-A selektivno vezuje ANP i BNP, dok NPR-B prepoznaje pretežno CNP (118). Ova specifičnost liganda, zajedno sa restriktivnim obrascem

ekspresije NPR u specifičnim organima, određuje ukupni fiziološki odgovor na porast nivoa različitih natriuretskih peptida.

Treći receptor, NPR-C ima skraćen intracelularni domen i odgovoran je za klirens natriuretskih peptida ANP-a i BNP-a (119). Duži poluživot BNP-a u plazmi objašnjava se nižim afinitetom NPR-C za BNP nego za ANP (120). Natriuretski peptidi se takodje inaktiviraju neutralnom endopeptidazom, cink metalopeptidazom koja je prisutna na površini endotelnih ćelija, glatkih mišićnih ćelija, kardiomiocita, renalnog epitela i fibroblasta (121). Bez obzira što su ovi enzimi nadjeni u bubrezima, glomerularna filtracija ima tek zanemarljivu ulogu u eliminaciji BNP-a. Nasuprot tome, utvrđeno je da se eliminacija NT-proBNP-a odvija uglavnom renalnom ekskrecijom (122).

1.2.2.5. Dejstva natriuretskih peptida

ANP i BNP ispoljavaju gotovo identična dejstva u različitim organima. U bubrezima, oni uzrokuju natriurezu i diurezu povećanjem GFR i inhibicijom reapsorpcije Na. Dilatacija aferentnih arteriola uz istovremenu konstrikciju eferentnih arteriola rezultira povećanjem intraglomerularnog pritiska i glomerularne filtracije, dok relaksacija mezangijalnih ćelija povećava filtracionu površinu i renalni protok krvi (123). U unutrašnjim medularnim sabirnim duktusima, povećani nivo intracelularnog cGMP vodi inhibiciji luminalnih kanala za natrijum i rezultira natriurezom (124). I natriureza i diureza se dalje povećavaju zbog inhibicije oslobadjanja renina i inhibicije dejstva vazopresina na sabirne kanale (125, 126).

Natriuretski peptidi relaksiraju glatku muskulaturu krvnih sudova, uzrokujući arterijsku i vensku dilataciju, što zajedno sa natriurezom dovodi do smanjenja prethodnog opterećenja (preload) i smanjenja krvnog pritiska. Redukovani vaskularni simpatički tonus sa sniženim pragom aktivacije vagusnih aferentnih nerava, suprosvavlja se tendenciji ka refleksnoj tahikardiji koja je izazvana smanjenjem preloada. Koronarna vazodilatacija poboljšava perfuziju miokarda bez povećane potrošnje kiseonika i bez izmene inotropnog stanja miokarda (93, 95, 127).

U centralnom nervnom sistemu, ANP i BNP zajedno sa lokalno produkovanim peptidima smanjuju apetit za solju i žedj. Oni takodje inhibiraju oslobadjanje kortikotropina i vazopresina i deluju na nivou moždanog stabla, smanjujući centralni

simpatički tonus (94, 95). Ova dejstva su komplementarna sa njihovima perifernim efektima, i doprinose njihovoj ulozi finog regulatora homeostaze tečnosti i elektrolita u ljudskom organizmu.

Natriuretski peptidi takodje inhibiraju renin-angiotenzin-aldosteron osovinu: infuzija ANP-a direktno blokira sekreciju renina i aldosterona, i pored toga inhibira stimulatorne efekte angiotenzina II na oslobadjanje aldosterona (125, 128, 129-130). Pored direktnih relaksirajućih efekata koje ispoljava u miokardu, BNP ispoljava i antiproliferativna i antifibrotička dejstva na vaskularno tkivo (131, 132). Za razliku od ANP-a i BNP-a, CNP ne funkcioniše kao cirkulišući hormon, ali deluje lokalno u krvnim sudovima kao vazodilatator i inhibitor proliferacije vaskularnih ćelija (93, 11).

Antifibrotičke, antiproliferativne i antiinflamatorne osobine natriuretskih peptida, a naročito lokalni parakrini efekti na renin-angiotenzin-aldosteron sistem mogu biti od važnosti kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB, kod kojih su nivoi natriuretskih peptida povećani, ali je sama natriureza strogo limitirana (95).

1.2.2.6. Odredjivanje BNP-a i NT-proBNP-a

I BNP i NT-proBNP mogu biti mereni potpuno automatizovanim i komercijalno dostupnim testovima ((AxSYM BNP, Abbott; ADVIA centaur BNP, Bayer; Elecsys NT-pro-BNP, Roche Diagnostics) koji su odlične preciznosti. Pouzdani “point-of-care” testovi su takodje dostupni za oba markera (Triage BNP, Biosite; Cardiac Reader NT-proBNP, Roche Diagnostics). Poluživot BNP-a je 20 minuta, dok je poluživot NT-proBNP-a 120 minuta. Ovo objašnjava zašto je cirkulišući nivo NT-proBNP-a približno 6 puta viši nego BNP-a, uprkos tome što se proizvode u ekvimolarnoj proporciji. Koncentracije BNP-a i NT proBNP-a u plazmi se izražavaju u pmol/L ili pg/mL. Konverzioni faktor za BNP je $1\text{pg/mL} = 0,289\text{ pmol/L}$, dok je za NT-proBNP $1\text{ pg/mL} = 0,118\text{ pmol/L}$. Vrednosti BNP-a dobijene različitim metodama nisu komparabilne i ne postoji faktor konverzije za uporedjivanje vrednosti BNP-a i NT-proBNP-a (122).

1.2.2.7. Dijagnostička primena BNP-a i/ili NT-proBNP-a u opštoj populaciji

Glavni stimulus za sintezu i sekreciju BNP-a i NT-proBNP-a je povećani stres zida LV, tako da nivoi ovih hormona u cirkulaciji ustvari odražavaju stepen preopterećenosti LV (101, 115). Brojne studije su saopštile da su nivoi BNP-a i NT-proBNP-a povećani kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom (133-135). Koncentracija BNP-a u plazmi pokazuje snažnu korelaciju sa pritiskom punjenja LV i povećava se paralelno sa težinom sistolne i dijastolne disfunkcije LV (115, 136). Pored toga, nivoi BNP-a i NT-proBNP-a u opštoj populaciji se povećavaju direktno proporcionalno sa povećanjem težine srčane insuficijencije procenjene na osnovu klasifikacije Njujorškog kardiološkog udruženja (the New York Heart Association - NYHA) i pogoršanjem funkcionalnog kapaciteta (137-138). Epidemiološke studije su pokazale da su i nivoi BNP-a i NT-proBNP-a u plazmi korisni skrining testovi za dijagnostikovanje srčane insuficijencije (139) i asimptomatske disfunkcije LV (138, 140).

U BNP (Breath Not Properly) studiji pronadjeno je da testiranje BNP-a pruža najveću tačnost od svih kliničkih varijabli za postavljanje konačne dijagnoze srčane insuficijencije kod bolesnika sa kliničkim simptomima akutne dispneje. Cut-off od 100 pg/mL za BNP ima senzitivnost od 90% za dijagnozu srčane insuficijencije i negativnu prediktivnu vrednost od 90%, što ga čini posebno korisnim u isključivanju srčane insuficijencije u opštoj populaciji (139). U PRIDE studiji, zabeleženo je da NT-proBNP ima sličnu prediktivnu vrednost u dijagnozi srčane insuficijencije. Cut-off za NT-proBNP od 300 pg/mL imao je negativnu prediktivnu vrednost od 99% u isključivanju srčane insuficijencije (135, 141). Medjutim, nijedna od ovih studija nije uključila bolesnike u V stadijumu HBB ($GFR < 15\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$ ili dijazno zavisne). Jedna od novijih studija koju su sproveli Mueller i sar. je, kao i BNP studija, ukazala da se sa smanjenjem bubrežne funkcije smanjuje korist od BNP testiranja i da je kod bolesnika sa procenjenom $GFR < 60\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$ potrebna veća cut-off vrednost za isključivanje dijagnoze srčane insuficijencije (139, 142).

1.2.2.8. Uzroci povećanih nivoa BNP-a i NT-proBNP-a u hroničnoj bubrežnoj bolesti

BNP i NT-proBNP su često povećani kod bolesnika sa HBB (14, 143-144). Prilikom ispitivanja bolesnika sa asimptomatskom HBB koji još nisu započeli lečenje dijalizama, povećani nivo BNP-a i NT-proBNP-a je zabeležen u više od polovine slučajeva (143). Kod bolesnika sa HBB koji se već leče ponavljanim dijalizama, nivoi BNP-a i NT-proBNP-a su skoro redovno povećani u odnosu na normalne granice diskriminacije (17, 18, 145-147).

Jedan od faktora koji doprinosi značajnom povećanju BNP-a i NT-proBNP-a kod bolesnika sa terminalnom fazom HBB je vrlo visoka prevalencija strukturnih i funkcionalnih abnormalnosti LV. Pokazalo se da su nivoi BNP-a i NT-proBNP-a kod ovih bolesnika udruženi sa LVH i sistolnom disfunkcijom (16-17, 96, 145-146, 148-149). Slični nalazi su saopšteni i u populaciji predijaliznih bolesnika sa HBB (143-144). U studiji Takami-ja i saradnika, pokazalo se da je plazmatski nivo BNP-a pouzdan parametar preopterećenja LV i da ima snažnu prediktivnu vrednost za srčanu insuficijenciju kod predijaliznih bolesnika sa HBB (14). Kod asimptomatskih bolesnika sa HBB, povećanje BNP ili NT-proBNP može takodje odražavati prisustvo ishemije miokarda (143-144). Slično tome, viši nivoi BNP-a i NT-proBNP-a su opservirani i kod bolesnika sa arterijskom koronarnom bolešću lečenih ponavljanim hemodijalizama (150).

Drugi faktor koji može uneti zabunu u interpretaciju povećanih nivoa BNP-a ili NT-proBNP-a u populaciji bolesnika sa terminalnom fazom HBB je renalna disfunkcija. Iako je neosporno da se BNP i NT-proBNP povećavaju sa snižavanjem bubrežne funkcije (13, 15, 143-144, 151), nedavno su opisane veće koncentracije natriuretskih peptida kod uremičnih bolesnika sa blagom srčanom disfunkcijom, nego kod bolesnika sa idiopatskom dilatativnom miokardiopatijom bez renalne disfunkcije (152). Kod bolesnika na HD, takodje je utvrđena snažna inverzna povezanost između NT-proBNP-a i 24-časovne produkcije urina (17). Vickery i saradnici su zabeležili slične nalaze, naime u njihovom istraživanju GFR je ispoljila nezavisan zbunjujući efekat na nivo BNP-a i NT-proBNP-a, sa tim da je opadanje bubrežne funkcije ipak jače uticalo na nivo NT-proBNP-a nego BNP-a (13). Druga istraživanja kod asimptomatskih

bolesnika sa HBB ukazala su da je GFR važnija determinanta serumskog nivoa BNP-a nego funkcija LV (15). Sa druge strane, Takami i sar. su pokazali da, iako BNP korelira sa bubrežnom funkcijom, end-dijastolni volumen i end-dijastolni pritisak kao markeri preopterećenja LV ostaju važne determinante plazmatskog nivoa BNP-a, nezavisno od bubrežne funkcije (14).

Jedna mala studija iz 2003. godine koja je obuhvatila bolesnike na HD bez ispoljene srčane bolesti, ukazala je na moguću povezanost između plazmatskog nivoa BNP-a i volumena ekstracelularne tečnosti, procenjenog bioimpedancijom (153). Međutim, rezultati kasnijih studija koje su upoređivale koncentracije BNP-a i NT-proBNP-a kod bolesnika na HD i PD sa volumnim statusom procenjenim pomoću bioimpedance ili dijametra vene kave inferior, nisu uspeali dosledno da potvrde povezanost BNP-a i NT-proBNP-a sa ekstracelularnom vodom (149, 154). Novija studija Madsen-a i saradnika je pokazala da se nivoi NT-proBNP-a malo smanjuju postupkom hemodijalize i ultrafiltracije, ali ovo smanjenje ne korelira sa uklanjanjem volumena ili sa interdijaliznim prinosom tečnosti (17). Nedavno objavljena studija Davida i sar. pokazala je značajnu povezanost između serumskog NT-proBNP-a i odnosa ekstracelularne vode i telesne težine samo kod hemodijaliznih bolesnika sa sistolnom disfunkcijom LV, ali ne i kod onih bez sistolne disfunkcije (155). Iako se nivoi BNP-a i NT-proBNP-a mogu povećati sa porastom volumnog opterećenja, rezimiranjem trenutno dostupnih dokaza stiče se utisak da ovi markeri ipak imaju ograničenu ulogu u proceni stanja hidracije u dijaliznoj populaciji.

Dijalizna procedura *per se* takodje utiče na nivoe BNP-a i NT-proBNP-a. Hemodijaliza može delimično redukovati nivoe BNP-a i NT-proBNP-a (17,156). Dok se nivo BNP-a može redukovati primenom i low-flux i high-flux dijaliznih membrana, izgleda da se nivo NT-proBNP-a može značajno redukovati samo primenom high-flux membrana (157). Porast nivoa BNP-a u plazmi je takodje saopšten nakon kreiranja AV fistule (158). Dakle, ovi različiti “confounding” faktori se takodje moraju uzeti u obzir prilikom procene dijagnostičkog i prognostičkog potencijala BNP-a i NT-proBNP-a kod dijaliznih bolesnika.

1.2.2.9. Dijagnostički potencijal BNP-a i NT-proBNP-a u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Brojne studije su prikazale povezanost nivoa BNP-a ili NT-proBNP-a sa masom LV i sistolnom funkcijom kod bolesnika sa HBB (13-16, 143-146, 149, 150, 155, 159), ali se samo ograničeni broj studija bavio ispitivanjem dijagnostičkog potencijala BNP-a i NT-proBNP-a za LVH i sistolnu disfunkciju. Ovi podaci su izloženi u tabeli 4. U CREED studiji (the Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients), koja je uključila kombinovanu kohortu bolesnika na HD i PD bez ispoljene srčane insuficijencije, ehokardiografskim pregledom je pronađena LVH kod 79% bolesnika, a sistolna disfunkcija kod 13% bolesnika. BNP je pokazao senzitivnost od 88% i pozitivnu prediktivnu vrednost od 87% u postavljanju dijagnoze LVH. Medjutim, specifičnost je bila samo 50%, a negativna prediktivna vrednost 53%. U istoj studiji, senzitivnost BNP-a za otkrivanje disfunkcije LV je bila 94%, ali je specifičnost bila samo 15%. Negativna prediktivna vrednost za dijagnozu sistolne disfunkcije LV je bila 96%, ali pozitivna prediktivna vrednost je takodje iznosila samo 15%. Navedeni podaci su ukazali da se određivanje BNP-a može pouzdano primenjivati u populaciji bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB za isključivanje dijagnoze sistolne disfunkcije i za detekciju prisustva LVH, ali ima vrlo skromnu vrednost u isključivanju LVH. Osim toga, studija ima ograničenu primenjivost na bolesnike koji su isključeni iz analize, a to su oni sa istorijom srčane insuficijencije i teške srčane disfunkcije (145).

Takodje, vrlo mali broj studija je istraživao dijagnostički potencijal BNP-a ili NT-proBNP-a za koronarnu arterijsku bolest, hipervolemiju i smrt kod bolesnika sa HBB (tabela 5). Jedna mala studija je pokazala da određivanje BNP-a kod bolesnika lečenih redovnim hemodijalizama može ukazati na buduće KV događaje sa specifičnošću od 93% (160). Sommerer i saradnici su pokazali da NT-proBNP ima visoku prediktivnu vrednost za hipervolemiju kod bolesnika na HD, kada se hipervolemija definiše mešovitim skorom koji se zasniva na kliničkoj proceni edema, promeni telesne težine, respiratornom kolapsu v. cavae inferior i ehokardiografskoj proceni plućnog arterijskog pritiska ili septalne i posteriorne debljine zida LK (161). Dve različite studije su pokazale da NT-proBNP ima umerenu prediktivnu vrednost za mortalitet kod dijaliznih bolesnika (17,162). Treba napomenuti da su najbolje cut-off vrednosti dobijene u ovim

studijama bile mnogo više nego cut-off vrednosti koje se upotrebljavaju u opštoj populaciji.

Tabela 4. Studije koje su procenjivale dijagnostički potencijal BNP-a ili NT-proBNP-a za abnormalnosti LK u HBB

Autor	Ispitanici	PPK za LVH, SDLK	Najbolji cut-off za LVH i SDLK
Mallamaci 2001 (145)	212 HD & 34 PD	0.81, 0.78	LVH (BNP): 23.4 pmol/L (sens 62%, spec 95%, PPV 95%, NPV 61%) SDLV (BNP): 38.9 pmol/L (sens 74%, spec 76%, PPV 31%, NPV 95%)
de Filippi 2005 (143)	207 HBB, faza 1-5	0.73, ND (bazirana na 99 ispitanika)	LVH (NT-proBNP): 271 pg/mL (sens 76%, spec 60%)
Khan 2006 (144)	54 HBB	0.72, ND (NT-proBNP) 0.72, ND (BNP)	LVH (NT-proBNP): 762 pg/mL (sens 63%, spec 67%, PPV 70%, NPV 57%)
Mark 2006 (15)	55 HD	0.664, 0.532	LVH (BNP): ND (sens – 68%, spec 67%, PPV 79%, NPV 53%) SDLV (BNP): ND (sens 94%, spec 21%, PPV 46% NPV 83%)
David 2008 (155)	62 HD	ND 0.95	SDLV (NT-proBNP): 7168 pg/mL (sens 98%, spec 79%)
Wang 2009 (159)	230 PD	0.82, 0.80	teška LVH (NT-proBNP): 8862 pg/mL (sens 77%, spec 79%, PPV 65%, NPV 87%) SDLV (NT-proBNP): 7468 pg/mL (sens 76%, spec 65%, PPV 32%, NPV 95%)

Legenda: HD - hemodijaliza; PD - peritoneumska dijaliza; HBB - hronična bubrežna bolest; PPK - površina pod krivom; LVH - hipertrofija leve komore; SDLV - sistolna disfunkcija leve komore; ND - nije dokumentovano; sens - senzitivnost; spec - specifičnost; PPV - pozitivna prediktivna vrednost; NPV - negativna prediktivna vrednost;

Tabela 5. Studije koje su procenjivale prediktivnu vrednost BNP-a ili NT-proBNP-a za koronarnu arterijsku bolest, hipervolemiju i mortalitet u HBB

Autori	Bolesnici	Ishod	PPK	Najbolji cut-off
Gotto 2002 (160)	53 HD	Prethodni srčani dogadjaji	0.788	BNP: 390 pg/mL (sens 62%, spec 93%)
De Filippi 2005 (143)	207 HBB	Prethodna koronarna bolest	0.69	NT-proBNP: 318 pg/mL (sens 78%, spec 56%)
Khan 2006 (144)	54 HBB	Koronarna bolest	0.80 (NT-proBNP) 0.82 (BNP)	NT-proBNP: 979 pg/mL (sens 79%, spec 70%, PPV 48%, NPV 90%) BNP: 228 pg/mL (sens 86%, spec 73%, PPV 52%, NPV 94%)
Takami 2004 (14)	103 HBB	Prepunjenost LV	0.73	BNP: 150 pg/mL (sens 52%, spec 93%)
Sommerer 2007 (161)	134 HD	Hipervolemija	0.815	NT-proBNP: 5300 pg/mL (sens 77%, spec 77%)
Madsen 2007 (17)	109 HD	Smrt	0.718 (preHD) 0.729 (postHD)	NT-proBNP: 4079 pg/mL (sens 82, spec 61%)
Sharma 2007 (162)	50 HD i 29 PD	Smrt	0.74	NT-proBNP: 350 pg/mL (sens 72%, spec 76%)

Legenda: HD - hemodijaliza; PD - peritoneumska dijaliza; HBB - hronična bubrežna bolest; PPK - površina pod krivom; LV – leva komora; sens - senzitivnost; spec - specifičnost; PPV - pozitivna prediktivna vrednost; NPV - negativna prediktivna vrednost;

1.2.2.10. Prognostički potencijal BNP-a i NT-proBNP-a u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Sposobnost BNP-a i NT proBNP-a za predviđanje mortaliteta i neželjenih KV događaja u populaciji bolesnika sa HBB istraživana je u brojnim studijama (16-18, 96, 146, 148, 159, 161-163). Pregled studija je dat u tabeli 6. Većina studija je sprovedena u populaciji bolesnika koji se leče redovnim hemodijalizama. Bez obzira da li su bolesnici sa sistolnom disfunkcijom LV i prethodnom srčanom insuficijencijom bili uključeni, nivoi BNP-a i NT-proBNP-a su dosledno pokazivali snažnu prognostičku vrednost za ukupni i KV mortalitet. Apple i saradnici su istraživali predijalizne nivoe NT-proBNP-a kod 399 bolesnika na HD i pokazali da su posle medijane praćenja od 24 meseca, vrednosti NT-proBNP-a analizirane po grupama bila značajno prediktivne za

mortalitet, a površina pod ROC (receiver operating characteristic) krivom povezana sa mortalitetom je bila viša kada je projektovana sa NT-proBNP-om, nego sa cTnT-om ili hsCRP-om (18). Na osnovu rezultata CREED studije je zaključeno da merenje BNP-a u plazmi bolesnika na hroničnoj HD nedijaliznog dana može poslužiti kao prediktor ukupne i KV smrti (16), dok je novija studija Madsen-a i sar. pokazala da su koncentracije NT-proBNP-a u plazmi pre i posle HD bile jednako uspešni prediktori dvogodišnjeg mortaliteta (17).

Navedeni podaci su ukazali na prognostičku važnost jednokratnog merenja BNP-a ili NT-proBNP-a, nezavisno od toga da li je merenje uradjeno pre HD, posle HD ili sredinom nedelje izmedju dijaliza. Pored toga, brojne studije su pokazale da je prognostička vrednost BNP-a i NT-proBNP-a nezavisna i da prevazilazi doprinos LVM i sistolne funkcije (16, 146, 148, 159), jasno potvrđujući značaj BNP-a i NT-proBNP-a za predviđanje mortaliteta i KV rizika u populaciji bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB. Nasuprot ehokardiografskim merenjima LVM i EF, koje imaju veliki koeficijent varijacije (>10%), koeficijent varijacije za BNP i NT-proBNP je mnogo niži. Iako BNP i NT-proBNP nisu čisti markeri volumnog statusa, njihova elevacija može delimično odražavati ekspanziju ekstracelularnog volumena i na taj način se može objasniti njihova dodatna prediktivna vrednost.

Još uvek je vrlo malo podataka koji se odnose na bolesnike lečene PD, a podaci dobijeni praćenjem bolesnika na HD se ne mogu jednostavno ekstrapolirati na ove bolesnike s obzirom da je obrazac uklanjanja tečnosti i molekula vrlo različit izmedju ova 2 modaliteta. Medjutim, nedavno objavljena studija Wanga i saradnika je obuhvatila 240 ispitanika sa medijanom praćenja od 36 meseci i potvrdila da je NT-proBNP važan prediktor mortaliteta i neželjenih KV događaja i da nosi dodatnu prognostičku informaciju koja prevazilazi doprinos LVH, sistolne disfunkcije i drugih konvencionalnih faktora rizika kod bolesnika na hroničnoj PD (159). Broj studija koje se bave istraživanjem prognostičkog značaja natriuretskih peptida u predijaliznoj populaciji bolesnika sa HBB je ostao gotovo zanemarljiv.

Tabela 6. Studije koje su procenjivale prognostičku vrednost BNP-a i NT-proBNP-a kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB

Autori	Bolesnici	Praćenje	N° događaja	Ishod i HR (95% CI)
Studije je kojima je ispitivan BNP				
Zoccali 2000 (16)	212 HD i 34 PD	26±10 mes	63 smrti, 74 KV događaja	Smrt: HR 1.62 (1.2 do 2.17), P = 0.001 za 1 jedinicu povećanju log-BNP-a KV smrt, T3 vs T1: HR 6.72 (2.44-18.54), p = 0.0002
Cataliotti 2001 (96)	112 HD	26±10 mes	16 KV događaja	KV smrt: HR 2.18 (1.26-3.76), p=0.005 za 1 jedinicu ↑ log-BNP-a
Naganuma 2002 (148)	164 HD	36 mes	13 srčanih smrti	Srčana smrt, Q4 vs Q1: HR 51.9 (6.5 do 416.3)
Goto 2002 (160)	53 HD	11.3±0.3 mes	13 KV događaja	KV događaji: HR nije dat (p<0.0001)
Rutten 2006 (163)	68 PD	Najmanje 18 mes	10 smrti	Smrt, BNP > medijane: HR 8.5 (1.0 do 73.8), P=0.005
Studije je kojima je ispitivan NT-proBNP				
Apple 2004 (18)	399 HD	24 mes	101 smrt	Smrt, gornja trećina nivoa NT-proBNP-a > 18.692 pg/ml povećani mortalitet
Wang 2007 (159)	240 PD	36 mes	66 smrti, 87 vaskularnih kongestija, 43 KV smrti, 78 KV događaja	Smrt, Q4 vs Q1: HR 4.97 (1.35 do 18.28), p= 0.016 Vaskularna kongestija, Q4 vs Q1: HR 4.25 (1.56 do 11.62), p=0.005 KV smrt – Q4 vs Q1: HR 7.5 (1.36 do 41.39), p=0.021 KV događaj – Q4 vs Q1: HR 9.1 (2.46 do 33.67), p=0.001
Madsen 2007 (17)	190 HD	24 mes	34 smrti	Smrt, pre-HD log-NT-proBNP:HR 1.42 (1.10 do 1.82), p=0.007 Smrt, post-HD log-NT-proBNP:HR 1.52 (1.18 do 1.96), p=0.001
Sommerer 2007 (161)	134 HD	36 mes	74 smrti i KV događaja	Smrt i KV događaji: HR 3.2 (1.7 do 6.02), p<0.001
Satyan 2007 (146)	150 HD	24 mes	46 smrti i 26 KV događaja	Smrt, Q4 vs Q1: HR 4.03 (1.31 do 12.40), p=0.02 KV smrt: HR 8.54 (1.04 do 69.98), p=0.05
Sharma 2007 (162)	50 HD i 29 PD	2.25±0.71 god	21 smrt	Smrt: HR 5.57 (3.14 do 8.21), p=0.02 (univarijantna analiza)

Legenda: CI- interval poverenja; KV-kardiovaskularni; HR-hazard ratio; Q-kvartili; T-tertili;

123. SRČANI TROPONINI

1.2.3.1. Tipovi i biologija srčanih troponina

Mišićna kontrakcija je uslovljena interakcijom između 2 glavna kontraktilna proteina, miozina i aktina, koji su polimerizovani tako da formiraju debeli i tanki filament kontraktilnog aparata. Troponinski kompleks, relativne molekulske mase od približno 80 kDa, sačinjen je od 3 polipeptidna lanca: TnT, TnI i TnC. Zajedno sa tropomiozinom je lokalizovan na aktinskom filamentu i od suštinske je važnosti u kalcijum-posredovanoj regulaciji kontrakcije skeletne i srčane muskulature (164). TnC, protein od 18 kDa koji veže Ca, reguliše aktivaciju aktinskih filamenata. TnI (23 kDa) inhibira kontrakciju u odsustvu vezivanja Ca za TnC, a TnT kao najveća subjedinica (35 kDa) pričvršćuje ceo troponinski kompleks za tropomiozin i za aktinske filamente (165). Postoje različite tkivno-specifične izoforme TnT, TnI i TnC (166,167). Kako srčana izoforma TnC učestvuje i u sporijoj kontrakciji skeletnih mišića, TnC nije specifičan za srčani mišić i ne može se koristiti u testovima za dijagnozu srčanog oštećenja (168). Međutim, i TnT i TnI su kodirani genima koji su specifični za srčani mišić, pa se označavaju kao kardijalni troponini (cTnT i cTnI). Pritom se cTnI karakteriše jedinstvenom N-terminalnom sekvencijom od 31 AA, prisutan je isključivo u miokardu i stoga je 100% specifičan za oštećenje srčanog mišića na ćelijskom nivou. Za razliku od cTnI, ekspresija cTnT postoji u vrlo malom stepenu i u skeletnim mišićima. Međutim, kardijalna subjedinica je kodirana odvojenim genom, od koga u procesu obrade pre-mRNK, alternativnim splajsovanjem 5 eksona definitivno mogu nastati 4 različite izoforme cTnT (169).

Posle oštećenja ćelija srčanog mišića, srčani troponini se oslobadjaju u cirkulaciju gde se mogu detektovati primenom monoklonskih antitela. Merenje cTnT i cTnI visokosenzitivnim testovima je zlatni standard u otkrivanju oštećenja miokarda i dijagnostikovanju akutne nekroze miokarda (2,170). Posle akutnog infarkta miokarda, cTnT i cTnI se oslobadjaju iz oštećenih miocita u različitim oblicima (171). Troponin T se oslobadja u vidu intaktnog TnT:I:C kompleksa, slobodnog TnT i malih imunoreaktivnih fragmenata. Međutim, TnI je identifikovan samo kao intaktni kompleks TnI:T:C i binarni kompleks TnI:C. Slobodan cTnI je hidrofoban molekul, što

uslovljava njegovu sklonost ka vezivanju za površine i/ili proteine, čime su potencijalno maskirani njegovi antigenski epitopi (172). Nepoznato je da li uremija može menjati detekciju, oslobađanje ili klirens troponinskih subjedinica, posebno cTnI vezanog za proteine (173).

Srčani troponini su strukturni proteini koji u vrlo maloj koncentraciji egzistiraju slobodni u citoplazmi srčanih miocita, i to približno 7% cTnT i 3.5% cTnI (165,174). Ostatak je vezan unutar sarkomere. Celularna distribucija određuje dinamiku oslobađanja, tako da se rano oslobađanje enzima pripisuje citozolnom rezorvoaru, dok kasno oslobađanje potiče iz strukturnih depoa (175). Jednom oslobodjen u cirkulaciju, cTnI pokazuje sklonost ka različitim biohemijskim modifikacijama uključujući fosforilaciju, oksidaciju i proteolizu (172,176), dok je proteoliza cTnT opisana u manjem stepenu (176). Ove modifikacije utiču na interakciju cTnI sa dugim troponinskim molekulima i menjaju njihovo prepoznavanje monoklonskim antitelima, što posledično utiče na performanse testova (172,176). Specifični efekti uremije na biohemiju cTnI su nepoznate, ali je cTnI verovatno podložniji hemijskoj modifikaciji i manje stabilan u cirkulaciji bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom nego cTnT (173).

1.2.3.2. Odredjivanje srčanih troponina

Prvi izveštaj o upotrebi cTnI za dijagnozu akutnog infarkta miokarda publikovan je 1987. godine, a kao dijagnostička metoda primenjen je radioimunoesej (177). Od tada do danas je učinjen veliki napredak u razvoju testova za troponine, a poboljšanja su bila usmerena na analitičke performanse, standardizaciju testova, specifičnost antitela i eliminaciju interferencije (178). Prva generacija enzimskog imunoeseja za cTnT koristila je 2 specifična monoklonska antitela koja su dobijena konvencionalnom hibridnom tehnologijom sa humanim troponinom T kao antigenom. Identitet kardijalnog TnT je bio potvrđen analizom kompozicije aminokiselina i analizom parcijalnih sekvenci, a kardiospecifičnost antitela je proverena imunoblot analizom (179), pa ipak su se dobijali lažno pozitivni rezultati kod bolesnika sa teškim oštećenjem skeletnih mišića. Stoga je razvijena druga generacija imunoeseja za cTnT, u kojoj je antitelo sa unakrsnom reaktivnošću 1B10 zamenjeno kardiospecifičnim antitelom visokog afiniteta M11.7 (180). Ubrzo je postala dostupna i treća generacija imunoeseja, koja je slične specifičnosti ali kao standardni materijal koristi rekombinantni humani

srčani troponin T, čime je omogućena reproducibilna i pouzdana standardizacija testova (181). Za detekciju cTnI, još uvek se uglavnom koriste “sendvič” imunoeseji sa 2 mesta vezivanja i promenljivom senzitivnošću. Međutim, za ranu dijagnozu infarkta miokarda i analizu stratifikacije rizika u akutnom koronarnom sindromu, poželjni su senzitivniji testovi. Zato su u poslednje vreme razvijeni “sendvič” imunoeseji sa 3 mesta vezivanja koji se zasnivaju na direktnoj hemiluminometrijskoj tehnologiji. Ovi ultrasenzitivni imunoeseji sa jednim poliklonskim antitelom i dva monoklonska antitela koja su usmerena direktno protiv stabilnog, centralnog regiona molekula cTnI, odlikuju se minimalnom detektibilnom koncentracijom od $0.006\mu\text{g/L}$ i funkcionalnom senzitivnošću od $0.017\mu\text{g/L}$ (178).

1.2.3.3. Uloga cTnT u akutnom infarktu miokarda

Srčani troponini imaju centralnu ulogu u dijagnozi i vodjenju bolesnika sa sumnjom na akutni koronarni sindrom. Poboljšane analitičke performanse novijih generacija imunoeseja sa visokom senzitivnošću i skoro apsolutnom specifičnošću za oštećenje miokarda, omogućile su otkrivanje čak i mikroskopskih zona nekroze miokarda. Evropsko udruženje za kardiologiju i Američki koledž za kardiologiju su 2000. godine objavili konsenzusni dokument, koji je redefinisao dijagnozu infarkta miokarda prema biohemijskim nalazima. Kao kritični biomarkeri prisustva miokardne nekroze istaknuti su srčani troponini, čije su povišene vrednosti definisane kao 99-ta percentilna vrednost distribucije u referentnoj kontrolnoj grupi (170). Mada su troponini precizni u identifikaciji miokardne nekroze, ona nije uvek posledica aterosklerotične koronarne bolesti. Stoga, u postavljanju dijagnoze infarkta miokarda bez ST elevacije, srčane troponine treba koristiti u skladu sa kliničkim okolnostima i elektrokardiografskim promenama. Oštećenje miokarda različitog porekla (miokarditis, trauma, kardioverzija) može uzrokovati nekrozu i oslobadjanje troponina, koje treba razlikovati na osnovu kliničkih parametara od infarkta miokarda bez ST elevacije (182).

Uprkos nekim razlikama u analitičkim i biohemijskim karakteristikama, cTnT i cTnI pokazuju sličnu dijagnostičku sposobnost u detekciji oštećenja miokarda. cTnT se određuje testovima jednog proizvođača, tako da se mogu upoređivati rezultati između različitih laboratorija. Opšte je prihvaćeno da cut-off vrednost od $0,1\mu\text{g/L}$ ukazuje na oštećenje miokarda. Nasuprot tome, postoji nekoliko imunoeseja za cTnI, čija se

senzitivnost i cut-off vrednost razlikuju prema definiciji proizvođača i koji su dosad korišćeni u različitim publikovanim studijama (183). Prema preporuci navedenog konsenzus dokumenta, da bi se izbegli lažno pozitivni rezultati savetuje se da svaka laboratorija odredjuje sopstvene cut-off vrednosti na nivou 99-te percentilne vrednosti u referentnoj populaciji i sa koeficijentom varijacije koji ne sme biti viši od 10% (170).

Postoji nekoliko razloga koji su doprineli prihvatanju srčanih troponina kao zlatnog standarda za dijagnozu akutnog infarkta miokarda u koronarnim jedinicima. Prvo, za razliku od kreatin kinaza ovi strukturni proteini se ne detektuju na značajnom nivou u cirkulaciji zdravih osoba, već se oslobadjaju samo tokom srčanog oštećenja. Drugi razlog je, što se za razliku od kreatin-kinaza, nakon srčanog oštećenja kardijalni troponini oslobadjaju u dužem vremenskom periodu tokom koga su detektibilni u krvi: cTnI do 5 dana i cTnT do 7-10 dana (184). Sakupljeni podaci ukazuju da se troponini pojavljuju u serumu 4-10 sati od početka infarkta i dostižu maksimum za 12-48 sati, tako da uzorak krvi treba uzeti na prijemu i opet ponoviti posle 6-9 sati (183). Konačno, ovi proteinski molekuli se mogu koristiti i u ranoj stratifikaciji rizika kod bolesnika sa nestabilnom koronarnom bolešću, ali takodje i kao indikatori terapijskog odgovora (184).

Veliko interesovanje su izazvale studije koje su ukazale na značaj troponina u stratifikaciji rizika u akutnom koronarnom sindromu (185). Naime, rano je otkriveno da su troponini povećani kod približno trećine bolesnika kod kojih je infarkt miokarda isključen na osnovu kriterijuma Svetske zdravstvene organizacije (WHO – World Health Organization) i koji su dobili dijagnozu nestabilnog akutnog koronarnog sindroma (186). Zaključeno je da ovi bolesnici imaju trajno “minorno oštećenje miokarda” koje ustvari opisuje stanje nestabilne koronarne bolesti, sa oslobadjanjem troponina u cirkulaciju kao jedinim indikatorom ćelijskog oštećenja (187). Angioskopski podaci su potvrdili da je povišeni nivo cTnT kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom bez ST elevacije povezan sa većim brojem akutnih i kompleksnih plakova i sa ekstenzivnijom koronarnom bolešću (188). Važno je da su takvi bolesnici imali izvesno lošiju prognozu u odnosu na bolesnike kod kojih je oštećenje miokarda isključeno merenjem srčanih troponina, što je kasnije potvrđeno u velikim kliničkim studijama koje su ispitivale prognostički značaj cTnT i cTnI za

kratkotrajni mortalitet bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom (189, 190). Ne samo da je bazalni nivo cTnT snažan, nezavistan prediktor kratkoročnog ishoda u akutnom koronarnom sindromu, već i ponavljano merenje u kasnijim uzorcima pojačava njegovu prediktivnu sposobnost za ozbiljne kardijalne događaje (191). Čak i minimalno povišene vrednosti cTnI, koje se trajno održavaju kod stabilnih bolesnika nakon epizode akutnog koronarnog sindroma bez ST elevacije, predviđaju mortalitet tokom dugoročnog praćenja (192).

Povećane koncentracije srčanih troponina su nadjene i u odsustvu kliničkih dokaza ishemije, što reafirmiše koncept po kome troponini odražavaju nekrozu miokarda, ali ne ukazuju na njen mehanizam. Izuzev ishemije, stanja kao što su miokarditis, kardiotoksičnost indukovana hemoterapijom, plućni embolizam, srčana trauma, amiloidoza, transplantacija srca i terminalni stadijum HBB, takodje mogu izazvati nekrozu miokarda i stoga, povećanje nivoa srčanih troponina (182).

1.2.3.4. Učestalost povećanja srčanih troponina T i I u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Vrednosti srčanih troponina su bile često povećane u odsustvu akutnog koronarnog sindroma medju bolesnicima sa različitim stadijumima HBB (193-199), pri čemu su vrednosti cTnT bile češće povećane u poredjenju sa vrednostima cTnI kod asimptomatskih bolesnika u terminalnom stadijumu HBB (198). Kada je za granicu diskriminacije korišćena 99-ta percentilna vrednost od 0.01 µg/L, 30-85% ovih bolesnika imalo je povećane vrednosti cTnT, a 5-18% povećane vrednosti cTnI (198).

U jednoj maloj studiji koja je obuhvatila samo bolesnike lečene ponavljanim hemodijalizama, Apple i saradnici su prvi put otkrili povećanje cTnT iznad referentnog nivoa kod 75% bolesnika, a povećanje cTnI kod 19% bolesnika (200). Nekoliko godina kasnije, isti autori su u velikoj grupi od 733 bolesnika lečenih ponavljanim hemodijalizama zabeležili vrednosti cTnT iznad 99-te percentilne vrednosti distribucije kod 82%, a povećane vrednosti cTnI kod 6% bolesnika (198). Medjutim, nisu svi autori pronašli tako visoku učestalost povećanog cTnT kod bolesnika na HD: Ooi i saradnici su saopštili da 29% ispitanika ima povišeni cTnT, a slične rezultate je dobio i Deegan sa saradnicima (194,196). Ove razlike se objašnjavaju poboljšanom specifičnošću novijih

generacija imunoeseja za cTnT, što je dokazano studijom koja je korišćenjem prve generacije imunoeseja zabeležila povećane vrednosti cTnT kod 71% bolesnika, dok su primenom druge generacije povećane vrednosti registrovane samo kod 17% bolesnika (201). Imunoeseji za određivanje cTnI različitih proizvođača takodje uslovljavaju široke varijacije učestalosti povišenih vrednosti cTnI kod bolesnika na HD: od 5% do 19% (18) Mnogo je manje podataka o bolesnicima sa HBB koji još nisu započeli lečenje dijalizom, ali je izvesno da se odnos učestalosti cTnT i cTnI održava i u ranijim stadijumima HBB. Studija Abbas-a i saradnika pokazala je da 43% bolesnika sa trećim, četvrtim i petim stadijumom HBB ima vrednosti cTnT iznad 99-te percentilne vrednosti, u odnosu na 18% bolesnika sa povišenim vrednostima cTnI. Pored toga, otkriveno je da prevalencija povećanih vrednosti cTnT i cTnI raste paralelno sa povećanjem težine HBB (193).

Moguća su sledeća objašnjenja za razlike u prevalenciji povećanih nivoa cTnT i cTnI kod bolesnika sa HBB: a) razlike u serumskom poluživotu cTnT i cTnI – kraći je poluživot cTnI; b) različit obrazac oslobađanja ova 2 molekula sa različitim koncentracijama slobodnih formi u citoplazmi kardiomiocita: 6-8% za cTnT i 2.5% za cTnI; c) uklanjanje cTnI kao hidrofobnijeg molekula od cTnT putem dijalize (hipoteza koju su izneli Ooi i Wayand u svojim studijama, a odbacili neki drugi autori) (184,194,202-204). Saznanja o nižoj incidenciji povećanja cTnI i odsustvu ekspresije cTnI van srčanog tkiva (201) doveli su prvo do zaključka prema kome cTnI može biti specifičniji dijagnostički i prognostički marker od cTnT, koji vernije odražava oštećenje miokarda kod bolesnika sa HBB (200). Medjutim, studija GUSTO IV (Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries IV), koja je obihvatila 7033 bolesnika sa suspektim akutnim koronarnim sindromom, nagovestila je da su povećane vrednosti cTnT bile od prediktivnog značaja za kratkoročnu lošu prognozu, nezavisno od klirensa kreatinina. Ustvari, pronadjeno je da povećana vrednost cTnT ima čak veću prognostičku važnost kod bolesnika sa blagim do umerenim stepenom HBB nego kod bolesnika bez renalne disfunkcije (205), što je nedvosmisleno potvrdilo specifičnost cTnT kao markera oštećenja miokarda kod bolesnika sa HBB.

1.2.3.5. Mehanizmi povećanja srčanih troponina u hroničnoj bubrežnoj bolesti

O uzrocima i kliničkom značaju povišenih koncentracija cTnT kod bolesnika sa uznapredovalim stadijumom HBB intenzivno je raspravljano tokom poslednje decenije. Inicijalna teorija prema kojoj ukrštena reaktivnost antitela iz prvih generacija imunoeseja može uzrokovati lažno pozitivne nalaze testa, sada je odbačena sa dokazima da se povećani nivo troponina dobija i primenom prve i druge generacije imunoeseja (184). Iako postoje neki podaci koji ukazuju na povezanost između bubrežne funkcije i srčanih troponina (193), malo je verovatno da je povećani nivo cTnT kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB rezultat smanjenog klirensa usled opadanja bubrežne funkcije, čemu u prilog svedoči i činjenica da su slobodni i vezani cTnT relativno veliki molekuli od 37 i 77 kDa. Praćenje bolesnika tokom jednogodišnjeg perioda posle transplantacije bubrega, nije ukazalo da se povišene koncentracije cTnT menjaju sa poboljšanjem bubrežne funkcije (206). Takodje, analizom bolesnika sa akutnim infarktom miokarda, nije nadjena razlika u poluživotu i brzini eliminacije cTnI između bolesnika sa normalnom renalnom funkcijom i onih sa terminalnim stadijumom HBB (207).

Sve više dokaza upućuje da povišeni nivo cTnT kod asimptomatskih bolesnika sa HBB zapravo odražava subkliničku nekrozu ili oštećenje miokarda. Korelacijom patohistoloških nalaza srčanog tkiva sa premortalnim nivoom troponina u serumu, Ooi i saradnici su zaključili da su svi bolesnici sa povećanim nivoom srčanih troponina imali značajne histološke promene, pri čemu je cTnT bio senzitivniji indikator stare, sveže ili sanirane nekroze miokarda ili mikro-infarkta u odnosu na cTnI (208). U studiji koja je uključila stabilne bolesnike na hroničnom programu HD iz 5 hemodijaliznih centara, deFilippi i saradnici su pokazali da stepen povećanja cTnT usko korelira sa stepenom i težinom angiografski verifikovane bolesti koronarnih arterija (209). Pored toga, povišene koncentracije cTnT i cTnI su bile nezavisno povezane sa stepenom i težinom kalcifikacija koronarnih arterija verifikovanih kompjuterizovanom tomografijom kod asimptomatskih bolesnika na HD (210). Konačno, metodom gel filtracione hromatografije je potvrđeno da se u serumu bolesnika sa HBB ne detektuju imunoreaktivni fragmenti već predominantno slobodna, intaktna forma cTnT, kao i kod

bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom (211), što je još jedan dokaz da je cirkulišući cTnT kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB zaista marker kardijalne patologije.

Povišene koncentracije srčanih troponina u serumu asimptomatskih bolesnika na HD su povezane sa faktorima KV rizika, ishemijskom srčanom bolešću u anamnezi i LVH (212). Studija Mallamaci i saradnika je nagovestila da kod stabilnih hemodijaliziranih bolesnika cTnT može biti jače povezan sa masom LV, nego sa srčanom ishemijom ili *diabetes*-om (213). U uremičnoj kardijalnoj hipertrofiji, dokazano je da se gustina kapilara smanjuje, dok se promer kardiomiocita i volumen intersticijalnog tkiva povećavaju. Ova neusaglašenost u rastu kardiomiocita i kapilara povećava difuzionu distancu kiseonika i redukuje toleranciju srca na ishemiju (214), što može dalje povećati rizik od subkliničkih ishemičnih insulta u tkivu miokarda i pojačati "isticanje" kardijalnih troponina kroz plazmatsku membranu srčanih miocita u cirkulaciju. Pored toga, povećani mehanički stres može menjati permeabilnost sarkoleme kardiomiocita (215), predisponirajući oslobađanje troponina. Dakle, veza između povećanih koncentracija cTnT i LVH može delimično odražavati oslobađanje ovih proteina iz hipertrofičnih kardiomiocita, ali može i ukazivati na prisustvo mikrovaskularne srčane bolesti koja se pojavljuje u uremiji. Primenom nuklearne magnetne rezonance za detekciju okultnih infarkta miokarda u maloj grupi bolesnika na hroničnoj HD, deFilippi i saradnici su prikazali odsustvo infarkta miokarda kod svih bolesnika sa niskim vrednostima cTnT, dok visoki nivo cTnT nije mogao biti objašnjen isključivo prethodnom subkliničkom nekrozom miokarda ili LVH (216). Ovi nalazi su doveli do pretpostavke da dodatna patološka stanja kao što je fibroza miokarda mogu doprinositi povećanju cTnT kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB. Kako je prikazano u opštoj populaciji, čak i minimalno povećanje cTnT može reprezentovati subkliničko oštećenje miokarda, sa važnim kliničkim implikacijama (217).

1.2.3.6. Prognostička vrednost troponina u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Mnoge prospektivne studije su pokazale da cTnT pouzdano predviđa kratkoročni i dugoročni ishod kod bolesnika sa renalnom disfunkcijom bez dokaza akutnog koronarnog sindroma, budući da su povećane vrednosti ovog biomarkera bile povezane sa povećanim rizikom morbiditeta, kao i ukupnog i KV mortaliteta (tabela 7).

Prognostička vrednost cTnT kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB lečenih ponavljanim hemodijalizama je dobro dokumentovana (195-200, 86, 202, 203, 209, 213, 218-219). Apple i saradnici su sproveli najveću studiju do sada, koja je obuhvatila 733 bolesnika na hroničnom programu HD i u kojoj su dokazali da je povećani nivo cTnT iznad 99th percentilne vrednosti referentne populacije udružen sa povećanim rizikom smrti tokom perioda praćenja od 1, 2 ili 3 godine. Ukupni mortalitet je bio čak 2-5 puta viši kod bolesnika sa povišenim nivoom cTnT u poredjenju sa bolesnicima čiji se nivo cTnT nije mogao detektovati (198). Ovi podaci su bili saglasni sa rezultatima mnogih drugih studija u populaciji hemodijaliznih bolesnika (195-199, 209, 213, 218-219). Meta-analiza kojom su obuhvaćeni podaci iz 28 studija publikovanih između 1999. i 2004. godine i koja je analizirala ukupno 3931 bolesnika na HD, ukazala je da cTnT može biti zaista pogodan alat za stratifikaciju rizika u populaciji bolesnika sa terminalnom fazom HBB i da može biti od pomoći u donošenju terapijskih odluka. Analiza sakupljenih podataka je takodje ukazala da povećani nivo cTnT (>0.1 µg/L) može biti korišćen u identifikaciji podgrupe asimptomatskih bolesnika sa lošim preživljavanjem i višim rizikom srčane smrt. Međutim, klinička interpretacija povišenog nivoa cTnI ostaje i dalje nedovoljno ubedljiva, uglavnom zbog nepostojeće standardizacije testova (7). Dok su neke studije nagovestile prediktivnu vrednost cTnI za mortalitet kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB nezavisno od metode imunoeseja (198), druge studije su pokazale samo ograničenu prognostičku vrednost cTnI u ovoj grupi bolesnika (220). Nekoliko autora je ipak favorizovalo primenu cTnI za stratifikaciju rizika bolesnika sa HBB, izveštavajući o superiornoj prognostičkoj vrednosti za dugoročni ishod (221, 222). Treba istaći da se uzimanje uzoraka za merenje srčanih troponina vrši pre dijalize, jer dijalizna procedura može uticati na nivo troponina. Tako se nivo cTnI može smanjiti do 86% posle dijalize, dok se nivo cTnT povećava posle dijalize (202). Pored toga, jedna novija studija je istakla značaj serijskog određivanja cTnT kod bolesnika na HD u predviđanju ukupnog mortaliteta i neželjenih KV događaja (223).

Mnogo je manje podataka koji se odnose na prognostičku vrednost cTnT kod bolesnika u predijaliznoj fazi HBB. Wood i sar. su potvrdili prognostički značaj povećane bazične koncentracije cTnT za smrt ili KV događaje kod predijaliznih bolesnika sa koncentracijom serumskog kreatinina iznad 500 µmol/l, koji su praćeni tokom

dvogodišnjeg perioda (6). U prospektivnoj studiji Abbas-a i saradnika sa medijanom praćenja od 19 meseci, povećani nivo cTnT u serumu bolesnika sa različitim stepenima renalne disfunkcije je takodje bio povezan sa smanjenim preživljavanjem (193).

Tabela 7. Studije koje su procenjivale prognostičku vrednost cTnT i cTnI kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB

Studija	Metod/bolesnici	Praćenje i ishod	Rezultati i zaključak
Stolear 1999 (218)	cTnT; n=94 stabilnih bolesnika na redovnoj HD	12 meseci, za ukupnu/KV smrt	38% bolesnika sa cTnT >0.10 ng/ml je umrlo, uglavnom zbog KV uzroka. cTnT je značajan nezavisan prediktor ishoda
Deegan 2001 (196)	cTnT; n=73 asimptomatski bolesnici na HD	15 meseci, za ukupnu smrt	65% bolesnika sa cTnT >0.1 ng/ml je umrlo, prema 15% u grupi sa cTnT <0.1 (p < 0.00001). CTnT ima značajnu prediktivnu vrednost, nezavisno od komorbiditeta
Apple 2002 (198)	cTnT and cTnI; n=733 bolesnika na HD	2 godine, za smrtni ishod	Kumulativne stope mortaliteta za 1., 2. i 3. godinu su bile mnogo više u bolesnika sa povišenim nivoima cTnT/cTnI. Povišeni nivoi cTnT i cTnI predviđaju 2x do 5x povećanje kratkoročnog i dugoročnog mortaliteta
Wood et al. 2003 (6)	cTnT; n=96 predijalzičnih bolesnika sa HBB	2 godine, za smrt/vaskularne dogadjaji	Stopa smrtnosti ili vaskularnih dogadjaja kod bolesnika sa povišenim cTnT (>0.1 ng/ml) je bila 42%, u odnosu na 24% kod onih sa nižim nivoom. cTnT je prognostički test za stratifikaciju bolesnika sa visokim KV rizikom
Iliou et al. 2003 (476)	cTnT; n=258 asimptomatskih bolesnika na HD	2 godine, za NKVD (srčana smrt, infarkt miokarda, nestabilna angina)	NKVD, ukupni mortalitet značajno veći za bolesnike sa povišenim nivoom cTnT (0.1 ng/ml). Nije bilo razlike za cTnI. Povišeni nivoi cTnT (ali ne cTnI) su prediktori visokog rizika za ukupni mortalitet i NKVD
Löwbeer 2002 (204)	cTnT i cTnI; n = 26 CAPD bolesnici bez znakova akutne ishemije miokarda	4 godine, za srčanu smrt i sve uzroke mortaliteta	12 od 14 bolesnika sa cTnT ≥0.04 µg/l umrlo je tokom perioda praćenja u odnosu na 3 od 12 bolesnika sa cTnT <0.04 µg/l. Povišene koncentracije cTnT signifikantno predviđaju loš ishod.
Choy et al. 2003 (219)	cTnT i TnI; n=113 bolesnika na HD	6 meseci, za ukupni/KV mortalitet i srčane dogadjaje	Pozitivni cTnT je bio nezavisan prediktor mortaliteta, odds ratio 13.6, p = 0.002. cTnT može biti važan nezavisan prognostički marker kod HD bolesnika

Conway et al, 2005 (197)	cTnT; n=75 asimptomatskih bolesnika na hroničnoj HD	18 meseci za mortalitet i akutni koronarni sindrom	Povećani bazalni predijalizni nivo cTnT-a je bio udružen sa povećanim rizikom mortaliteta ili akutnog koronarnog sindroma (p=0.0015). Merenje cTnT-a jednom godišnje može biti korisna referentna tačka za dijagnozu bola u grudima ili akutnog koronarnog sindroma.
De Filippi et al. 2003(209)	cTnT; CRP; n=224 bolesnika na HD	Prosečni period praćenja 827 dana (raspon od 29–1327), za sve uzroke mortaliteta	Progresivno viši nivoi cTnT predviđaju povećani rizik smrti u poredjenju sa najnižim nivoom. Rastući nivoi troponina T i CRP-a su udruženi sa povećanim rizikom smrti. Viši nivoi cTnT mogu identifikovati bolesnike sa teškom angiografskom koronarnom bolešću
Ooi 2001 (208)	cTnT; n=244 bolesnika na hroničnoj HD	34 meseca, za sve uzroke mortaliteta i novu ili pogoršanu KVS bolest i neuropatiju	Povećani rizik srčane ili iznenadne smrti kod bolesnika sa povećanim nivoima cTnT (0.1 µg/l). cTnT predviđa dugoročni ukupni i kardijalni mortalitet kod bolesnika na HD
Beciani 2003 (221)	cTnI; n=101 bolesnik na HD, bez dokaza koronarne arterijske bolesti	1 godina, za akutne kardijalne događaje	64% akutnih srčanih događaja kod bolesnika sa povećanim cTnI >0.15 ng/ml, vs. 9.7% kod bolesnika sa cTnI <0.15. cTnI je vredni prediktivni marker kardiovaskularnih događaja kod asimptomatskih dijaliznih bolesnika.
Roberts 2009 (223)	cTnT; n=81 bolesnik na HD, bez simptoma KVB	1,8 godina, za ukupni mortalitet i kombinovane KV događaje	Bolesnici sa cTnT<0,04µg/L imali su preživljavanje 100%, sa cTnT≥0,04µg/L u 1-4 uzoraka imali su preživljavanje 90%, sa cTnT≥0,04µg/L u 5 uzoraka imali su preživljavanje 78%. Slični rezultati dobijeni su i za NKVD. Broj izmerenih povećanih vrednosti cTnT tokom vremena predviđa mortalitet i NKVD

cTnT - srčani troponin T; cTnI - srčani troponin I; HD - hemodijaliza; tHBB – terminalni stadijum HBB; NKVD – neželjeni kardiovaskularni događaji; KV – kardiovaskularni; CAPD – kontinuirana ambulantna peritoneumska dijaliza; CRP – C-reaktivni protein.

1.2.4. C-REAKTIVNI PROTEIN

1.2.4.1. Uvod

CRP pripada evolutivno staroj i stabilnoj pentraksin familiji plazmatskih proteina, sa sposobnošću kalcijum-zavisnog, specifičnog vezivanja liganada koji sadrže fosfoholin. Humani CRP je molekul od 23 kDa sačinjen od 5 identičnih neglikoliziranih polipeptidnih subjedinića, koje sadrže po 206 aminokiselinskih rezidua. Protomeri su nekovalentno udruženi u prstenastu konfiguraciju sa cikličnom pentamerskom

strukturuom (224). Spada u proteine akutne faze i proizvodi se u jetri kao deo nespecifičnog imunog odgovora na tkivno oštećenje, infekciju i inflamaciju; njegov nivo je obično nizak kod zdravih osoba ali može porasti 100-200 puta ili čak i više u akutnoj sistemsnoj inflamaciji (225). CRP je sposoban da vezuje apoptotične ćelije, da povećava njihovu opsonizaciju i fagocitozu od strane makrofaga (226), da vezuje oksidisane lipoproteine niske gustine (oxLDL) (227), a isto tako je dobro poznata njegova uloga u aktivaciji komplementa. To je parametar koji se najčešće koristi za procenu inflamacije u opštoj populaciji i populaciji bubrežnih bolesnika.

1.2.4.2. Prevalencija i uzroci povišenog nivoa CRP-a u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Prevalencija inflamacije definisane pomoću CRP-a u u dijaliznoj populaciji, prema rezultatima različitih studija, kreće se u rasponu od 12% do 65%, zavisno od rasne pripadnosti i senzitivnosti testa (8). Brojne studije su potvrdile da su povišeni nivoi CRP-a udruženi sa KV komplikacijama kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB. Stenvinkel sa saradnicima je saopštio da prevalencija inflamacije medju predijaliznim bolesnicima sa HBB iznosi 32%, ali je pronašao i snažnu povezanost izmedju CRP-a i debljine intime-medije karotidnih arterija kao markera ateroskleroze (228). U CREED studiji, povećani nivo CRP-a je bio udružen sa brojem aterosklerotičnih plakova u karotidnim arterijama bolesnika na HD i CAPD-u (229). Pored toga, zapažanja o snažnoj vezi izmedju povećanog nivoa CRP-a i srčanih valvularnih kalcifikacija kod bolesnika na CAPD-u (230), kao i zapažanja o snažnoj vezi izmedju povećanih vrednosti CRP-a i vaskularnih kalcifikacija aorte i arterija šaka kod bolesnika na HD (231), poslužila su kao važni dokazi o bliskoj medjusobnoj povezanosti kalcifikacija i inflamacije u uremiji. Sa druge strane, povećani nivoi CRP-a pre i posle HD su bili snažno povezani sa indeksom mase LV, debljinom zida LV i debljinom interventrikularnog septuma, ukazujući da povećani nivo CRP-a koji prati HD može biti koristan u predviđanju stepena srčane hipertrofije (232). Iako ovi nalazi sugerišu da se srčana hipertrofija može dodati listi onih KV komplikacija koje se mogu predvideti testiranjem hsCRP-a, oni takodje ukazuju da povišeni nivo CRP-a nije specifičan i ne odražava prirodu KVB.

Važno je napomenuti da interkurentni klinički događaji kao što su infekcije, hirurške intervencije ili inflamatorna stanja i povrede mogu izazvati oštećenje tkiva, koje može biti odgovorno za promene nivoa CRP-a kod dijaliznih bolesnika (233). Mnogobrojni faktori, od kojih su neki povezani sa dijalizom, a neki nezavisni od dijalize, koji mogu doprineti inflamaciji i povećanom nivou CRP-a kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB, zbirno su prikazani u tabeli 8 (234). U kohorti bolesnika na PD, Fine i saradnici su pokazali da su infekcija-inflamacija i status “visokih transportera”, ali ne i aterosklerotična vaskularna bolest prediktori povišenog nivoa CRP-a. Zabeležano je da više od polovine bolesnika na PD ima povećani nivo CRP-a bez očiglednih razloga i da su se povećane vrednosti normalizovale tokom sledećih nekoliko meseci praćenja kod 40% bolesnika (235). Stoga, ovi dokazi ukazuju da CRP nije specifičan marker rizika KVB kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB i da se njegovo povećanje ne može pripisivati isključivo prisustvu KVB.

Tabela 8. Uzroci inflamacije kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB

Uzroci povezani sa dijalizom	Uzroci nezavisni od dijalize
Infekcije katetera, fistule i grafta	Redukovani renalni klirens citokina
Bioinkompatibilnost dijalizne membrane	Akumulacija uremijskih toksina
Bioinkompatibilnost dijalizne peritonealne tečnosti	Ateroskleroza <i>per se</i>
Aktivacija komplementa	Hronična srčana insuficijencija
Povratna filtracija	Hipertrofija leve komore
Peritonitis i infekcija izlaznog mesta katetera	Dentalne i gingivalne infekcije
Izlaganje endotoksinima i drugim citokin-indukujućim supstancama iz dijalizata	Druge infekcije
	Malnutricija

1.2.4.3. Uloga C-reaktivnog proteina u kardiovaskularnoj bolesti

1.2.4.3.1. C-REAKTIVNI PROTEIN I ATEROSKLEROZA

Ateroskleroza se danas sve više posmatra kao inflamatorni proces, od inicijalnog regrutovanja cirkulišućih leukocita u arterijskom zidu, preko formiranja masnih pruga i

aterosklerotičnih plakova, pa sve do ruptуре plaka i kliničke slike akutnog koronarnog sindroma. Sve je više dokaza da CRP može biti kauzalno uključen u proces ateroskleroze i da može direktno posredovati u vaskularnom oštećenju (236).

Efekti CRP-a na endotelne ćelije su ispitivani u brojnim studijama *in vivo* i *in vitro*. CRP direktno indukuje ekspresiju adhezivnih molekula ICAM (intercellular adhesion molecule), VCAM (vascular cell adhesion molecule) i E-selektina, kao i hemokina MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1), što rezultira u povećanoj adheziji ćelija U837 (monocitna ćelijska linija) za endotelne ćelije humane umbilikalne vene (237). U humanim aortalnim endotelnim ćelijama, nađeno je da CRP redukuje ekspresiju i aktivnost endotelne azot-oksida sintaze (eNOS) (238), što smanjuje bioraspoloživost azot-oksida (NO). Animalne studije su potvrdile da se efekti CRP-a na arterijski endotel ogledaju u smanjenom oslobađanju NO i posleđično, smanjenoj vazodilataciji, kao i povećanoj aktivnosti NADPH oksidaze, sa povećanom produkcijom superoksida (239). CRP takodje povećava ekspresiju novoidentifikovanih receptora za oxLDL (LOX-1: lecitin like OxLDL receptor-1) u endotelnim ćelijama, što rezultira u povećanoj adheziji monocita i povećanom preuzimanju oxLDL u ove ćelije (240). I ostali brojni efekti CRP-a, uključujući redukovano oslobađanje prostaciklina i prostaglandina F-1 α (PGF-1 α), a povećanu ekspresiju inhibitora aktivatora plazminogena-1 (PAI-1) i oslobađanje endotelina-1 (ET-1), svedoče prvenstveno o ulozi CRP-a u pojavi endotelne disfunkcije, ali i o kasnijem učešću u razvoju aterotromboze (241).

Cermak sa saradnicima je jedan od prvih istraživača koji su, proučavajući efekte CRP-a na monocitno-makrofagnu populaciju ćelija, pokazali da CRP indukuje sekreciju monocitnog tkivnog faktora (TF) i da ispoljava prokoagulantnu aktivnost (242). Nekoliko drugih istraživača je pokazalo da CRP pojačava oksidativni stres, prevashodno svojim dejstvom na oslobađanje anjona superoksida i indukcijom aktivnosti mijeloperoksidaze u makrofagima (243). CRP takodje indukuje oslobađanje proinflamatornih citokina iz humanih monocita, kao što su interleukin (IL) 1 β , IL-6 i tumor nekrotišući faktor (TNF)- α (244) i podstiče oslobađanje stimulišućeg faktora za makrofagne kolonije (M-CSF) iz humanih makrofaga, što dovodi do njihove proliferacije (245). Postoje dokazi da CRP podstiče preuzimanje oxLDL (ali ne i nativnih molekula LDL) i izaziva intracelularnu akumulaciju holesterolskih estara u

makrofagima pacova *in vivo* (246). U kasnijim fazama ateroskleroze, mogla bi biti od važnosti uloga CRP-a u stimulaciji aktivnosti matriks-metaloproteinaza i kolagenaze u humanim monocitima/makrofagima (247). Akumulacija monocita u arterijskom zidu dalje raste zahvaljujući zahvaljujući ulozi CRP-a u ushodnoj regulaciji CC hemokinskih receptora-2 (CCHR2) u monocitima, čime se povećava njihova hemotaksa u odgovoru na MCP-1 (248). Monocitni receptori CCHR2 igraju centralnu ulogu u formiranju aterosklerotičnog plaka.

U poslednje vreme, posebna pažnja u razvoju i kliničkom toku ateroskleroze pridaje se i tipu 1 receptora za angiotenzin (AT1-R), koji olakšavaju produkciju slobodnih kiseoničnih radikala i migraciju, proliferaciju i remodeliranje glatkih mišićnih ćelija. CRP vrši ushodnu regulaciju AT1-R u glatkim mišićnim ćelijama, a takodje pojačava migraciju i proliferaciju glatkih mišićnih ćelija, indukovanu angiotenzinom II (249). Pored toga, merenjem cirkulišućih kompleksa komplement-CRP dokazana je sposobnost CRP-a da indukuje aktivaciju komplementa klasičnim putem (250). U animalnim modelima se pokazalo da bi CRP i aktivirani komplement mogli biti glavni medijatori ishemičnog oštećenja miokarda (251). Vezivanje CRP-a za enzimski degradirani, tkivno deponovani LDL povećava aktivaciju komplementa (252) koja može dalje pojačavati inflamatorni odgovor i podsticati formiranje aterosklerotičnog plaka. Pretpostavka da je formiranje penastih ćelija u humanoj aterogenezi bar delimično izazvano makrofagnim preuzimanjem nativnog LDL-a koji je opsonizovan CRP-om (253), opovrgnuta je nalazima novijih studija (254). Drugi mehanizmi pomoću kojih bi CRP učestvovao u vaskularnom oštećenju podrazumevaju direktnu inhibiciju diferencijacije, preživljavanja i funkcije endotelnih progenitorskih ćelija, delimično putem redukovane ekspresije eNOS u ovim ćelijama, čime je smanjena angiogeneza i odgovor na hroničnu ishemiju (255). Ovi laboratorijski podaci sugerišu da CRP ima direktnu višestruku ulogu u patogenezi ateroskleroze i u posredovanju progresije KVB.

1.2.4.3.2. C-REAKTIVNI PROTEIN I SRČANA HIPERTROFIJA

Preliminarni klinički podaci ukazuju na moguću povezanost između CRP-a i srčane hipertrofije, mada mehanizmi koji su za to odgovorni ostaju uglavnom nejasni. Da li CRP predstavlja samo marker inflamacije udružen sa srčanom hipertrofijom ili direktno modulira hipertrofični odgovor srčanih miocita još uvek nije poznato. Jedna *in vitro*

studija je pokazala da CRP direktno povećava ekspresiju inducibilne NOS i sintezu NO u srčanim miocitima pacova koji su stimulirani interleukinom-1 β , nezavisno od mehanizma koji kontroliše nuklearni faktor kappa B (NF- κ B) (256). KV kongestija ili hipervolemija je česta komplikacija kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB i važan je faktor rizika za razvoj srčane hipertrofije. KV kongestija je udružena sa imunom aktivacijom, jer je dokazano da postoji povezanost između povećane permeabilnosti edematozne crevne sluzokože i translokacije bakterija i endotoksina kod bolesnika sa teškom hipervolemijom, što dovodi do povećane produkcije proinflammatoryh citokina (257). CRP je sposoban da vrši ushodnu regulaciju AT1 receptora u vaskularnim glatkim mišićnim ćelijama (249), a poznato je da renin-angiotenzin sistem ima centralnu patofiziološku ulogu u razvoju LVH i ateroskleroze. Aktivacija renin-angiotenzin sistema *per se*, u sklopu patofizioloških mehanizama koji su angažovani u teškoj hroničnoj srčanoj insuficijenciji, povezana je sa povećanim nivoom TNF-a u cirkulaciji (258). Ne samo da povećani nivo TNF α korelira sa težinom hemodinamskog opterećenja LV, već se nivo TNF α i TNF receptora povećava direktno proporcionalno sa pogoršanjem funkcionalne klase srčane insuficijencije procenjene na osnovu NYHA klasifikacije (259).

Drugi pretpostavljeni mehanizam kojim se može objasniti povezanost CRP-a sa hipertrofijom LV je povećani oksidativni stres, dobro poznati fenomen u HBB (260), koji je blisko povezan sa sistemskom inflamacijom (261). LVH kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB je udružena sa miokardnom i endokardnom fibrozom, smanjenjem kapilarne gustine miokarda, vaskularnim remodeliranjem i kalcifikacijama (57, 62, 214). U studiji koja je proučavala oksidativni stres kod bolesnika na HD, otkrivena je negativna korelacija između nivoa CRP-a i nivoa α -tokoferola u plazmi i potvrđena snažna povezanost između inflamatornog statusa i oksidativnog stresa (262). U eksperimentalnom modelu bubrežne insuficijencije, lečenje antioksidansima sprečava pojavu disproporcije između kardiomiocita i kapilara u levoj srčanoj komori i smanjuje fibrozu miokarda (263). Povećani oksidativni stres, koji se dokazuje povećanjem lipidne peroksidacije i ekspresije hem oksigenaze -1mRNA u srčanoj hipertrofiji izazvanoj opterećenjem pritiskom, kao i smanjenje hipertrofije nakon uvođenja antioksidantne terapije, podržavaju pretpostavku o ulozi povećanog oksidativnog stresa u genezi fibroze miokarda i LVH u uremiji (264).

1.2.4.4. Prognostička vrednost CRP-a u hroničnoj bubrežnoj bolesti

Brojne studije su istraživale povezanost između CRP-a i kliničkog ishoda kod bolesnika sa HBB, a naročito kod bolesnika lečenih ponavljanim hemodijalizama, kao što je prikazano u tabeli 9. Pionirski radovi Bergstrom-a i saradnika o inflamaciji i nutritivnom statusu dijaliznih bolesnika su prvi pokazali da je povećani nivo CRP-a snažan prediktor mortaliteta kod bolesnika na HD (265). Kasnija studija Zimmerman-a i saradnika je pokazala da 46% hemodijaliznih bolesnika ispoljava aktiviranu akutnu fazu inflamatornog odgovora koja se ogleda u povećanju nivoa CRP-a i da je povećani nivo CRP-a usko povezan sa drugim aterogenim faktorima rizika, odnosno sa višim nivoima fibrinogena i serumskog lipoproteina (a), a nižim nivoima holesterola, Apo (apolipoproteina) A1 i serumskog albumina. U multivarijantnoj regresionoj analizi, CRP i starost su ostali snažni nezavisni prediktori ukupnog i KV mortaliteta tokom dvogodišnjeg perioda praćenja. Bolesnici koji su imali najviše vrednosti CRP-a (iznad 15.8 mg/L) imali su 4.6 puta veći rizik ukupnog mortaliteta i 5.5 puta veći rizik KV mortaliteta (266). Saopšteni rezultati su pružili važne dokaze o upotrebljivosti CRP-a kao biomarkera KV rizika kod bolesnika na HD. Naredna studija istih istraživača je potvrdila iznete zaključke, ukazujući da se prognostička vrednost CRP-a produžava i tokom četvorogodišnjeg perioda praćenja (267). U prospektivnoj studiji koja je beležila vrednosti inflamatornih i nutritivnih parametara kod 73 bolesnika na HD u tromesečnim intervalima tokom perioda od 15 meseci, CRP se izdvojio kao moćan prediktor hospitalizacija (268). Bellomo i saradnici su takodje pokazali da jednokratno određivanje CRP-a na početku studije ima nezavisnu prognostičku vrednost za KV događaje bolesnika na HD tokom 36 meseci praćenja (269).

Sa druge strane, Owen i saradnici nisu pronašli značajnu povezanost između CRP-a i rizika mortaliteta kod bolesnika na HD. Logističkom regresionom analizom oni su otkrili snažnu, nezavisnu i inverznu povezanost između serumskog albumina kao nutritivnog markera i koncentracije kreatinina, ukupnog broja limfocita i rizika smrti (270). Autori su sugerisali da patološki mehanizmi koji objašnjavaju povećani rizik smrti kod bolesnika na HD primarno deluju putem smanjenja vitalnih telesnih proteina, a ne putem inflamacije. Rezultati ove studije su ograničeni vrlo kratkim periodom praćenja od 6 meseci i nepotpunom statističkom obradom, koja nije uključila Cox

regresionu analizu sa KVB kao potencijalnim regresorom. Nedavno su Honda i saradnici upoređivali prediktivnu vrednost različitih biomarkera (hsCRP, interleukin-6 [IL-6], albumin i fetuin) u kohorti od 176 bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB, na početku dijaliznog lečenja. Multivarijantna analiza je pokazala da malnutriciju najbolje predviđaju nivoi hsCRP-a i IL-6, KVB nivo IL-6, a mortalitet nivoi albumina, IL-6 i fetuina A. Prema ovim analizama, izgleda da je IL-6 koji pokreće produkciju CRP-a u jetri najpouzdaniji prediktor ne samo KVB i mortaliteta, već takodje i opadanja telesne mase kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB, ukazujući opet na povezanost izmedju malnutricije i inflamacije kod bubrežnih bolesnika (273).

Tabela 9. Hronološki pregled studija koje su procenjivale prognostičku vrednost povećanog nivoa CRP-a kod bolesnika na hemodijalizi

Studija	Bolesnici; period praćenja	Ishod	Metod	Relativni rizik (95% interval poverenja)
Bergstorm, 1995 (265)	128; 48 meseci	Ukupni mortalitet	Nefelometrija	Bez detalja
Owen, 1998 (270)	1045; 6 meseci	Ukupni i KV mortalitet	Nefelometrija	NS
Zimmerman, 1999 (266)	280; 24 meseca	Ukupni i KV mortalitet	Nefelometrija	Mortalitet: 1,11 KV mortalitet: 1,22
Ikizler, 1999 (268)	73; 15 meseci	Hospitalizacije	Nefelometrija	H: 1,30
Wanner, 2002 (267)	280; 4 godine	Ukupni i KV mortalitet	Nefelometrija	Mortalitet: 1,15 KV mortalitet: 1,21
Bellomo, 2003 (269)	76; 36 meseci	KV događaji	ND	KV događaji: 1,78 (1,06-2,98)
Korevaar, 2004 (271)	186; 22,5 meseci	Ukupni mortalitet	Imunoturbidometrija	Mortalitet: 1,71 (1,20-2,43)
Nascimento, 2004 (272)	159; 21 mesec	Ukupni mortalitet	Nefelometrija	Mortalitet: 1,03 (1,00-1,06)
Honda, 2006 (273)	179, 26 meseci	KVB, mortalitet	Nefelometrija	NS

CRP – C-reaktivni protein; KV – kardiovaskularni; KVB – kardiovaskularne bolesti; ND – nije dokumentovano; NS – nije signifikantno;

Tabela 10. Hronološki pregled studija koje su procenjivale prognostičku vrednost povećanog nivoa CRP-a kod bolesnika na peritoneumskoj dijalizi

Studija	Bolesnici; period praćenja	Ishod	Metod	Relativni rizik (95% interval poverenja)
Noh, 1998 (275)	106; 2 godine	Ukupni mortalitet	Nefelometrija	Ukupni mortalitet: 1,19(1,01-1,40)
Iseki, 1999 (277)	163; 5 godina	Ukupni mortalitet	Turbidometrija	Ukupni mortalitet: 3,48(1,76-6,89)
Haubitz, 2001 (279)	34; 72 meseca	KV događaji	ELISA	Ukupni mortalitet: 20(3,04-131,73)
Herzig, 2001 (276)	50; 3 godine	Infarkt miokarda	Nefelometrija	Infarkt miokarda: 4,8(1,0-23)
Ducloux, 2002 (278)	240; 41±21 mesec	KV događaji	Nefelometrija	Ukupni mortalitet: 5,2(1,37-12,94) KV događaji: 5,41(1,69-12,85)
Wang, 2003 (24)	246; 24 meseci	Ukupni i KV mortalitet	Hemiluminescenca	Ukupni mortalitet: 1,02(1,01-1,04) KV mortalitet: 1,03 (1,01-1,05)
Fein, 2003 (280)	63; 1,18 godina	Ukupni mortalitet	Imunoturbidometrija	Ukupni mortalitet: NS

CRP – C-reaktivni protein; KV – kardiovaskularni; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; NS – nije signifikantno;

Do sada je većina studija koristila jednokratno merenje CRP-a za ispitivanje povezanosti inflamacije sa različitim ishodima i KV komplikacijama. Značajne varijacije u vrednostima CRP-a koje se beleže kod istog dijaliznog bolesnika tokom vremena, umanjuju pouzdanost zaključaka do kojih se došlo u takvim studijama. Nedavno je NECOSAD (Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis) studija jasno pokazala da nivo CRP-a raste tokom dijalizne sesije kod 25% bolesnika, da bi se tokom interdijaliznog perioda ovaj nivo opet vratio na početne vrednosti. Nezavisno od bazalnog nivoa CRP-a, uz prilagodjavanje za starost, komorbiditete, nutritivni status i primarnu bubrežnu bolest, povećanje CRP-a od 1mg/L tokom dijalizne procedure bilo je udruženo sa povećanjem rizika mortaliteta za 9% (95% interval poverenja [CI], 1.02 do 1.16) (271). U drugoj studiji, bolesnici na HD podeljeni

su u 3 grupe na osnovu 4 sukcesivna merenja CRP-a tokom šestomesečnog prebazalnog perioda: a) grupu bez inflamacije, b) grupu sa povremeno prisutnom inflamacijom i c) grupu sa permanentnom inflamacijom. Klinički značajna inflamacija je bila definisana granicom diskriminacije za CRP od 5.1 mg/L, na osnovu ROC krive. Grupa bolesnika sa perzistentnom elevacijom CRP-a imala je značajno višu stopu mortaliteta nego druge dve grupe bolesnika i perzistentna inflamacija je bila važan prediktor smrti za bolesnike na HD (272). Ovi nalazi ukazuju da serijsko određivanje CRP-a tokom dužeg perioda praćenja može biti od veće vrednosti u predviđanju ishoda dijaliznih bolesnika nego jednokratno merenje. Pored toga, promene nivoa CRP-a tokom pojedinačne hemodijalizne procedure nose dodatnu prognostičku informaciju.

Kod bolesnika na PD, serumske vrednosti CRP-a su uglavnom niže nego kod bolesnika na HD, ali su još uvek povećane u poredjenju sa zdravim osobama (274). Niža inflamatorna aktivnost tokom PD tumači se odsustvom stimulusa koji potiču iz bioinkompatibilnosti dijalizne membrane, pufera ili bakterijskih fragmenata u dijalizatu. Nezavisno od ovih nalaza, sve je više dokaza da je CRP takodje koristan za stratifikaciju KV rizika u populaciji bolesnika na PD (24, 275-279), kako je to ilustrovano u tabeli 10. U jednoj od prvih studija koja je ispitivala prediktivnu vrednost jednokratnog bazalnog merenja CRP-a kod bolesnika na CAPD-u, pokazalo se da je CRP nezavisni prediktor dvogodišnjeg preživljavanja ovih bolesnika (275). U studiji koja je pratila kohortu bolesnika na PD tokom trogodišnjeg perioda, Herzig i saradnici su pokazali da je povećani nivo CRP-a nezavisni prediktor akutnog infarkta miokarda, mada nije pronadjena statistički značajna povezanost sa ukupnim i KV mortalitetom (276). Tokom mnogo dužeg praćenja bolesnika, Iseki i saradnici su ipak potvrdili prediktivni značaj CRP-a za preživljavanje, pri čemu je povećani nivo CRP-a (>10 mg/L) bio udružen sa relativnim rizikom mortaliteta od 3.48 (95% CI, 1.76-6.89) u multivarijantnoj Cox proporcionalnoj hazardnoj analizi (277). Nekoliko drugih autora je takodje saopštilo da već jednokratno određivanje CRP-a poseduje značajnu nezavisnu prediktivnu vrednost za ukupni i KV mortalitet (24), kao i za neželjene KV događaje kod bolesnika na CAPD-u (278, 279). Neke studije nisu dokazale prediktivnu vrednost CRP- za ukupni mortalitet, ali su zabeležile postojeći trend (280).

Iako su povišene vrednosti CRP-a pokazale snažnu prediktivnu vrednost za morbiditet i mortalitet dijaliznih bolesnika, značaj visokog nivoa CRP-a u predijaliznoj populaciji bolesnika sa HBB nije proučavan tako ekstenzivno. Ortega i saradnici su pratili kohortu od 66 predijaliznih bolesnika u prospektivnoj studiji, i zabeležili visoku zastupljenost inflamacije (23 bolesnika ili 35%), pri čemu je povišeni nivo CRP-a bio povezan sa hospitalizacijama, ali ne i sa mortalitetom tokom jednogodišnjeg perioda praćenja (281). U MDRD studiji koja je obuhvatila veliku grupu bolesnika u trećem i četvrtom stadijumu HBB sa medijanom praćenja od 125 meseci, visoki CRP i niski serumski albumini bili su nezavisni prediktori ukupnog mortaliteta, ali je samo visoki nivo CRP-a ispoljio nezavisnu prognostičku vrednost za KV mortalitet (282). Studija koja je nedavno ispitivala prognostički značaj kardijalnih biomarkera za ukupni mortalitet u grupi od 213 predijaliznih bolesnika sa III, IV i V fazom HBB, pokazala je da su nakon prilagodjavanja za značajne kliničke varijable, samo NT-proBNP i CRP zadržali nezavisnu prognostičku vrednost za ukupni mortalitet (283). Očigledno je da značaj visokog nivoa CRP-a kod bolesnika sa uznapredovalom fazom HBB nije u potpunosti razjašnjen, što je razumljivo ako se ima u vidu da opadanje renalne funkcije *per se* vodi akumulaciji citokina, kao što je IL-6, koji može biti delimično odgovoran za povećani nivo CRP-a. Osim toga, njegovu prediktivnu vrednost umanjuje i visoka varijabilnost u vremenu, kao i zavisnost od interkurentnih kliničkih događaja (284).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Mnogobrojni podaci ukazuju da su kardiovaskularne bolesti visoko prevalentne kod osoba u terminalnom stadijumu HBB koji se leče ponavljanim dijalizama, te se u ovoj populaciji bolesnika smatraju odgovornim za približno polovinu svih smrtnih ishoda. Medjutim, istovremeno prisustvo brojnih tradicionalnih i netradicionalnih faktora rizika koji se pojavljuju i umnožavaju sa opadanjem bubrežne funkcije, utiče na postepeni razvoj kardiovaskularnih bolesti još u ranijim fazama HBB. Zbog učestale pojave klinički tihih i neprepoznatih formi bolesti, rana identifikacija početnih kardiovaskularnih abnormalnosti se pojavljuje kao preduslov za uspešno lečenje ovih bolesnika i prevenciju neželjenih ishoda. Stoga je ponavljana primena neinvazivnih, pouzdanih i ekonomski isplativih skrining testova tokom progresije HBB od najveće važnosti za stratifikaciju kardiovaskularnog rizika i izbor adekvatnih preventivnih i terapijskih strategija. S obzirom da su ehokardiografska ispitivanja i tehnika magnetne rezonance nepraktični skrining testovi u rutinskoj kliničkoj praksi, kao korisna alternativa bi se mogla pokazati upotreba određenih laboratorijskih testova.

U opštoj populaciji je jasno definisana dijagnostička sposobnost TnT i TnI kao markera miokardne nekroze, BNP-a i NT-proBNP-a kao markera srčane insuficijencije i hsCRP-a kao markera sistemske inflamacije. Takodje, u mnogobrojnim istraživanjima dobro je opisana prognostička sposobnost ovih biomarkera za ukupni mortalitet, kardiovaskularni mortalitet i neželjene kardiovaskularne događaje. Na osnovu podataka iznetih u uvodnom delu doktorske disertacije, može se zaključiti da dijagnostička i prognostička sposobnost kardijalnih biomarkera kod bolesnika sa različitim stadijumima HBB još uvek nije sa sigurnošću utvrđena. Ovu populaciju bolesnika karakterišu u manjoj ili većoj meri univerzalno povećane vrednosti svih kardijalnih biomarkera. S obzirom da je HBB stanje u kome se prepliće dejstvo mnogih faktora koji takodje utiču na nivo kardijalnih biomarkera, kao što su renalna disfunkcija, anemija, malnutricija, inflamacija, starije životno doba itd, nedovoljno je rasvetljeno u kom stepenu su ovi faktori odgovorni za povećani nivo navedenih biomarkera. Postavlja se pitanje da li su povećane vrednosti pojedinih kardijalnih biomarkera udružene sa ranim strukturnim i funkcionalnim kardiovaskularnim abnormalnostima nezavisno od ostalih ne-kardioloških faktora i da li oni pojedinačno ili njihove kombinacije mogu biti od prognostičke važnosti za ukupno i kardiovaskularno preživljavanje bubrežnih bolesnika ili za brzinu progresije hronične bubrežne slabosti.

Na osnovu toga, postavljena je sledeća **radna hipoteza** koja glasi: vrednosti pojedinih kardijalnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika u uznapredovalom stadijumu HBB koji još nisu započeli lečenje dijalizom povezane su sa strukturalnim i funkcionalnim abnormalnostima kardiovaskularnog sistema i imaju prognostički značaj za neželjene kardiovaskularne događaje i smrtni ishod. Stoga bi se ovi jednostavni i neinvazivni laboratorijski testovi mogli koristiti kao alternativna ili komplementarna sredstva sa ehokardiografskim ispitivanjima za procenu kardiovaskularnog rizika kod nekomplikovanih bolesnika sa HBB.

U cilju provere radne hipoteze, postavljeni su sledeći ciljevi istraživanja:

1. Ispitati kardiovaskularni status asimptomatskih bolesnika u IV i V stadijumu HBB primenom ultrazvučne dijagnostike i uporediti dobijene rezultate sa rezultatima pregleda kontrolne grupe zdravih osoba odgovarajuće polne i starosne distribucije;
2. Kod svih ispitanika odrediti vrednosti kardijalnih biomarkera i utvrditi postojanje eventualnih razlika u srednjim vrednostima hsCRP-a, BNP-a, NT-proBNP-a, TnI i TnT izmedju bolesničke i kontrolne grupe;
3. Ustanoviti da li postoje razlike u prosečnim vrednostima ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa i kardijalnih biomarkera u odnosu na nivo bubrežne funkcije u bolesničkoj grupi;
4. Ispitati povezanost nivoa kardijalnih biomarkera u grupi asimptomatskih bubrežnih bolesnika sa:
 - a. kliničkim, demografskim i laboratorijskim karakteristikama;
 - b. elementima ehokardiografskog pregleda: strukturnim parametrima, parametrima sistolne i dijastolne funkcije, kao i prisustvom kalcifikacija;
 - c. elementima ehosonografskog pregleda karotidnih arterija: debljinom intime-medije, prisustvom aterosklerotičnih plakova i kalcifikacija;
5. Utvrditi prediktivni značaj kliničkih, laboratorijskih i ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa za serumske koncentracije pojedinačnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika sa IV i V stadijumom HBB;
6. Odrediti prognostičku vrednost pojedinih biomarkera i njihovih kombinacija za neželjene kardiovaskularne događaje, smrtni ishod i progresiju ka tHBB kod ovih bolesnika;

3. MATERIЈAL I METODE

3.1. EKSPERIMENTALNA GRUPA

U studiju su uključeni bolesnici sa četvrtom i petom fazom HBB u predijaliznom periodu (jačina glomerularne filtracije manja od 30 ml/min), koji se kontrolišu i leče u Nefrološkoj ambulanti Zdravstvenog centra «Zaječar» u Zaječaru. U okviru petogodišnjeg trajanja studije, regrutovani su bolesnici bez kliničkih dokaza srčane insuficijencije i/ili koronarne bolesti i potom praćeni tokom dvogodišnjeg perioda. Srčana insuficijencija je isključena na osnovu odsustva simptoma i fizikalnih znakova: povećanog jugularnog venskog pritiska ili bilateralnih bazalnih krepitacija. Isključeni su i bolesnici sa poznatom dijagnozom srčane insuficijencije ili oni koji se leče od srčane insuficijencije, kao i bolesnici sa anginom pectoris, upotrebom nitrata i/ili istorijom infarkta miokarda.

Na osnovu navedenih kriterijuma sačinjena je eksperimentalna grupa koja je obuhvatila 61 bolesnika, starosti od 23 do 85 godina, medju kojima je bilo 34 muškaraca starosti od 33-81 godine i 27 žena starosti od 23-85 godina. Kao osnovna bubrežna bolest je naveden glomerulonefritis kod 9 bolesnika, intersticijalni nefritis kod 24, hipertenzija kod 11, *diabetes mellitus* kod 4, policistična bolest bubrega kod 1, neklasifikovani uzroci kod 6 i nepoznati uzroci kod 6 bolesnika. U eksperimentalnoj grupi je bilo 13 pušača, 35 nepušača i 13 bivših pušača. Od hipertenzije je bolovalo 52 bolesnika, a od *diabetes mellitus-a* 4 bolesnika. Pored diuretika, u antihipertenzivnoj terapiji su bili najzastupljeniji inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (N=50), zatim blokatori kalcijumskih kanala (N=36), pa beta adrenergički blokatori (N=17), blokatori angiotenzinskih receptora (N=3), dok su samo dva bolesnika sa teškom refraktarnom hipertenzijom uz ostale lekove koristila i centralne antiadrenergike (Methyl-dopu). Pozitivnu porodičnu anamnezu o postojanju *diabetes mellitus-a* saopštilo je 9 bolesnika, o postojanju hronične bubežne bolesti 10 bolesnika, a o postojanju kardiovaskularne bolesti 34 bolesnika i to: hipertenzije (N=28), moždanog udara (N=16), infarkta miokarda (N=5), i gangrene donjih ekstremiteta (N=1).

3.2. KONTROLNA GRUPA

Kontrolna grupa je formirana od zainteresovane rodbine i prijatelja bolesnika, kao i zdravih dobrovoljaca kojima je prethodno objašnjen cilj istraživanja. Kriterijumi za isključivanje u kontrolnoj grupi su bili: hipertenzija, *diabetes mellitus*, oboljenje bubrega, srca ili jetre. Po navedenim kriterijumima, sačinjena je kontrolna grupa od 22 zdrava dobrovoljca starosti od 47 – 79 godina sa istog geografskog područja, koji su upareni sa bolesnicima po starosti i polu. U grupi je bilo 12 muškaraca starosti od 58-78 godina i 10 žena starosti od 47-79 godina. Među njima je bilo 7 pušača i 15 nepušača. Ispitanici iz kontrolne grupe su imali normalan fizički nalaz, EKG i ehokardiogram, dok je krvni pritisak u mirovanju bio $\leq 140/90$ mmHg. Osim potrebnih parametara, uzete su i druge “skrining” analize radi isključivanja pre svega bubrežnih, ali i drugih oboljenja koja bi mogla uticati na rezultate istraživanja. Devet osoba je radilo teže fizičke poslove, ili su bili poljoprivrednici, dok su ostali bili službenici ili penzioneri.

3.3. PROTOKOL ISPITIVANJA

Bolesnici su regrutovani u 3 etape: prva serija bolesnika u periodu februar-mart 2007. godine (n=31), druga serija u periodu februar-mart 2009. godine (n=10) i treća u decembru 2010. godine (n=20). Čitava kontrolna grupa je pregledana u periodu februar-mart 2007. godine (n=22). Inicijalna klinička procena svakog ispitanika prilikom prve posete obuhvatila je pregled prethodne medicinske dokumentacije, fizički pregled i popunjavanje upitnika o demografskim podacima, istoriji bolesti i korišćenim lekovima. Merenje krvnog pritiska je izvršeno posle deset minuta odmora u sedećem položaju prema smernicama Britanskog udruženja za hipertenziju (British Hypertension Society), potom je urađen EKG (285). Uzorci krvi za rutinske hematološke i biohemijske analize uzeti su posle najmanje 15 minuta odmora. Ehokardiografski pregledi i ehosonografski pregledi karotidnih arterija izvršeni su u privatnoj kardiološkoj ordinaciji „Dr Bastać“ tokom narednih nedelju dana, a prethodilo im je merenje telesne težine, telesne visine i izračunavanje body-mass index-a.

Od kardiovaskularnih faktora rizika, sa posebnom pažnjom su razmatrani hipertenzija, *diabetes mellitus* i pušenje. Usvojena je klasifikacija arterijske hipertenzije prema

kriterijumima JNC VII (*Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure*), na osnovu čega su bubrežni bolesnici sa krvnim pritiskom <130/80 mmHg kvalifikovani kao normotenzivni. Arterijska hipertenzija kod zdravih odraslih osoba je definisana kao porast vrednosti sistolnog krvnog pritiska (SKP) iznad 140 mmHg i/ili dijastolnog krvnog pritiska (DKP) iznad 90 mmHg (77). Dijabetičarima su smatrane osobe koje su imale hiperglikemiju i/ili uzimale oralne hipoglikemike ili insulin. Pušenje je definisano dužinom pušačkog staža i brojem popušanih cigareta u toku dana, a nepušačima su smatrane osobe koje nikada nisu pušile. Za dalje analize, ispitanici su svrstani u 2 kategorije: a) sadašnji/bivši pušači ili b) nepušači.

3.3.1. LABORATORIJSKE ANALIZE

Hemoglobin, hematokrit i broj leukocita su radjeni na hematološkom analizatoru marke Act-diff. Sedimentacija eritrocita je uradjena metodom po Western Greenu. Fibrinogen je odredjen turbidimetrijskom metodom po Fowel-u. Urea, kreatinin, mokraćna kiselina, ukupni proteini, albumini, holesterol i trigliceridi su radjeni na biohemijском analizatoru marke J Lab 600 originalnim testovima proizvođača Instrumentation Laboratory. Odredjivanje uree je obavljeno metodom završne tačke, koja se zasniva na dvostepenoj enzimskoj reakciji u kojoj učestvuju enzimi ureaza i glutamat-dehidrogenaza. Kreatinin je odredjivan kolorimetrijskom metodom koja se zasniva na reakciji kreatinina sa pikrinskom kiselinom u alkalnoj sredini. Mokraćna kiselina je takodje odredjivana po principu završne tačke, bihromatskom analizom na osnovu Tunderove reakcije, u kojoj učestvuju dva enzima: urikaza i peroksidaza. Klirens endogenog kreatinina (CCr, izražen u ml/min) je izračunat po Cockroft-Gault-ovoj formuli (286):

$$CCr = \frac{(140 - starost) * TT}{72 * sCr} * (0.85 \text{ ako je žena})$$

Takodje je procenjena GFR (eGFR, ml/min/1.73m²) po skraćenoj MDRD formuli (287):

$$eGFR = 1.86 * (sCr)^{-1.154} * (starost)^{-0.203} * (0.742 \text{ ako je žena}) * (1.210 \text{ ako je Afro - Amerikanac})$$

Ukupni proteini su određeni po principu završne tačke, bihromatskom analizom koja predstavlja modifikovanu biuretsku metodu., dok su albumini određeni po istom principu, sa bromkrezol zelenim. Ukupni holesterol i trigliceridi su takodje određivani po principu završene tačke, bihromatskom metodom koja je zasnovana na modifikaciji metode po Allain-u i saradnicima. HDL holesterol je određen homogenim, direktnim metodom, bez prethodnog tretmana uzorka. VLDL holesterol je izračunat na sledeći način: VLDL holesterol = koncentracija triglicerida/ 2,2. LDL holesterol je izračunat pomoću Friedwaldove formule: LDL holesterol = ukupni holesterol – VLDL holesterol – HDL holesterol

Analize za određivanje serumskog gvoždja i zasićenja transferina su izvršene na fotometru marke SCREEN MASTER. Gvoždje je određeno bojenom reakcijom sa ferozinom – komercijalni testovi firme Elitech. UIBC je određen zasićenjem siderofilina sa feri-amonijum sulfatom. TIBC i zasićenje transferina su određeni računskim putem. Intaktni parathormon (iPTH, 1-84) u serumu je određen na imunohemijskom analizatoru Access, po principu imunoenzimskog dvostepenog testa. Kako regularni komercijalni CRP testovi ne poseduju senzitivnost neophodnu za procenu kardiovaskularnog rizika u zdravoj populaciji, korišćeni su visokosenzitivni testovi sa detekcionom granicom od 0.1 mg/l. Visokosenzitivni CRP (hsCRP) je određen imunoturbidimetrijskom latex metodom na automatskom analizatoru Olympus AU2700.

Merenje NT proBNP-a i TnT-a izvršeno je elektrohemiluminiscentnim imunoesejom na aparatu Cardiac Reader (Roche Diagnostics). *The Roche Cardiac pro-BNP* test je prvi *point-of-care* test za određivanje NT-proBNP-a. Test koristi monoklonalna i poliklonalna antitela usmerena protiv aminokiselina 27-31 i 39-50 za kvantitativno merenje NT-proBNP-a u hepariniziranoj punoj krvi. Monoklonalna antitela se obeležavaju zlatom, a poliklonalna antitela biotinom, formirajući strukturu sendviča, koji se sastoji od: zlatom obeleženog antitela, molekula NT-proBNP-a i na kraju, antitela obloženog biotinom. Opisani kompleks je pričvršćen za streptavidin molekul i povezuje se sa bazom test trake. Intenzitet boje rezultirajućeg sendvič kompleksa se meri optičkim sistemom u Cardiac Reader aparatu. *Cardiac T Quantitative* je imunohemijski test kojim se određuje cTnT pomoću aparata Cardiac Reader. Test

sadrži 2 monoklonalna antitela, antitelo obeleženo zlatom i antitelo obloženo biotinom, koji formiraju sendvič kompleks, te se merenje cTnT-a takodje obavlja imunohromatografski. Za analizu biomarkera se koristi 150 µL heparinizirane venske krvi, a ukupno vreme analize je 12 minuta. Ustanovljeni analitički rang za NT-proBNP je od 60-3000 ng/ml, a za cTnT 0.05-2.00 ng/ml. Svi uzorci krvi naših ispitanika su analizirani unutar 30 minuta od vadjanja krvi.

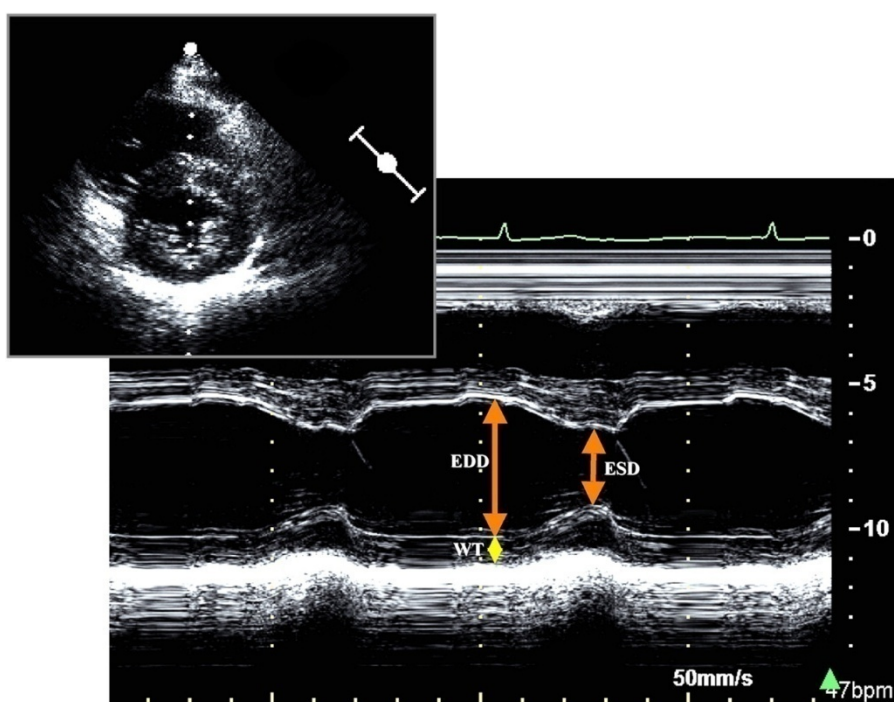
Koncentracije BNP-a i TnI-a su određene enzimskim imunoesejom (MEIA – microparticle enzyme immunoassay) na aparatu AxSYM (Abbott Laboratories). Mi smo sakupljali uzorke krvi ujutru između 8 i 10h, posle noćnog gladovanja, u epruvete za jednokratnu upotrebu koje su sadržale EDTA (za BNP) ili heparin (za TnI). Uzorci plazme su brzo odvajani centrifugiranjem na 2400 obrtaja tokom 15 minuta na sobnoj temperaturi, i potom su zamrznuti na -20° C do testiranja. Testiranje je izvršeno u najkraćem roku tokom sledećih mesec dana. Test za određivanje BNP-a koristi dva monoklonalna antitela miša, jedno obloženo mikropartilama lateksa i drugo konjugovano sa alkalnom fosfatazom, u *two-step* formatu sendviča sa fluorescentnim merenjem. Po istom principu, za određivanje TnI se koristi tehnologija u 2 koraka i konfiguracija tipa sendviča sa 2 antitela, jednim monoklonskim za vezivanje i drugim poliklonskim za detekciju. Prvo se TnI vezuje za antitelo obloženo mikročesticom formirajući antigen-antitelo kompleks. Zatim se dodaje konjugat antitelo-alkalna fosfataza da bi se formirao antitelo-antigen-antitelo kompleks. Na kraju, dodaje se 4-metillumbelliferil fosfat i formirani fluorescentni produkt se meri da bi se odredila koncentracija TnI u uzorku. Test je linearan do koncentracije TnI od 50 ng/ml i senzitivnost je 0,3 ng/ml. Za testiranje je bila neophodna minimalna zapremina uzorka od 220 µl.

3.3.2. EHOKARDIOGRAFSKI PREGLED

Ehokardiografski pregledi su obavljani pomoću aparata marke "Toshiba Power Vision 6000 ", multifrekventnom *phase array* sektorskom sondom od 2.0 do 4.5 MHz. Svim ispitanicima urađen je standardni ehokardiografski pregled, kao i pregled metodom tkivnog Dopplera (TDI – tissue Doppler imaging). Ispitanike je pregledao isti ehosonografista koji prethodno nije bio upoznat sa njihovim identitetom ili kliničkim statusom, po zajedničkim evropskim i američkim preporukama za kvantifikaciju srčanih

šuljina (288) i preporukama za evaluaciju dijasolne funkcije putem ehokardiografije (289).

Oslanjajući se na ove preporuke, jednodimenzionalnom (M mod) tehnikom vodjenom pod kontrolom dvodimenzionalne tehnike (2D ili B-mod) izmereni su sledeći ehokardiografski parametri: teledijastolni ili enddijastolni dijametar leve komore (LVEDD, mm), telesistolni ili endsistolni dijametar leve komore (LVESD, mm), debljina zadnjeg zida leve komore u dijasoli (PWTd, mm) i debljina interventrikularnog septuma u dijasoli (IVSTd, mm). Da bi se dobila precizna linearna merenja, dvodimenzionalni snimci su zabeleženi iz uzdužnog parasternalnog akustičkog prozora. Kao što je predloženo, unutrašnji dijametri LV i debljine zadnjeg zida i interventrikularnog septuma mereni su na nivou manje osovine LV, u nivou vrhova mitralnih listića. Pored već navedenih parametara, izmeren je još dijametar leve pretkomore (LA, mm) u M modu, pod kontrolom dvodimenzionalne slike iz parasternalne kratke osovine na nivou aortne valvule. Sva merenja uradjena su u najmanje tri srčana ciklusa i prikazana kao njihova srednja vrednost (288, 289). Iz dobijenih rezultata izračunati su sledeći parametri i indeksi: LVmass (masa leve komore u g), LVMI (indeks mase leve komore, indeksacija na telesnu površinu u g/m^2) i RWT (relativna debljina zida leve komore).



Slika 1: Merenja end-dijastolnog dijametra leve komore (LVEDD) i end-sistolnog dijametra (LVESD) pomoću dvodimenzionalno vodjene M-mode ehokardiografije

Prema preporukama Američkog društva za ehokardiografiju (ASE – American Society of Echocardiography) masa leve komore se izračunava iz linearnih dimenzija leve komore po sledećoj formuli:

$$LVmass = 0,8 \times (1,04 \times [(IVSTd + PWTd + LVEDD)^3 - LVEDD^3]) + 0,6$$

Ova formula je anatomski validirana i prikladna za procenu bolesnika bez velikih distorzija u geometriji leve komore, npr. za bolesnike sa hipertenzijom. Međutim, nedostatak ove formule je što zahteva stepenovanje primarnih veličina na kub, pa se čak i male greške u merenju tim postupkom umnožavaju. LVMI predstavlja odnos LV mass/ površina tela. LVH se definiše kao LVMI veći od 115 g/m² za muškarce i 95 g/m² za žene. Dalje se vrši diferenciranje LVH u koncentričnu i ekscentričnu hipertrofiju na osnovu merenja relativne debljine zida (RWT). Prema kriterijumima Američkog društva za ehokardiografiju, relativna debljina zida leve komore je izračunata kao odnos dvostruke debljine zadnjeg zida sa enddijastolnom dimenzijom leve komore:

$$RWT = (2 \times PWTd)/LVEDD$$

Koncentrična hipertrofija postoji ako je RWT veća od 0,42 u prisustvu LVH, dok je ekscentrična hipertrofija prisutna ako je RWT manja od 0,42 u prisustvu LVH, pri čemu su moguća 2 podtipa: nedilataciona (uz normalan LVEDD) i dilataciona (uz povećani LVEDD). Koncentrična remodelacija leve komore postoji kada je RWT veća od 0,42 a nisu prisutni kriterijumi za hipertrofiju leve komore (288).

Sistolna funkcija se procenjuje merenjem ejekcione frakcije leve komore (EF), iz prosečne vrednosti 3 merenja u različitim srčanim ciklusima i izračunavanjem frakcionog skraćenja (FS) iz redukcije unutrašnjeg dijametra leve komore tokom srčanog ciklusa. Dakle, sistolna funkcija leve komore je određena izračunavanjem ejekcione frakcije iz end-dijastolnog volumena leve komore (EDV) i end-sistolnog volumena leve komore (ESV), prema formuli:

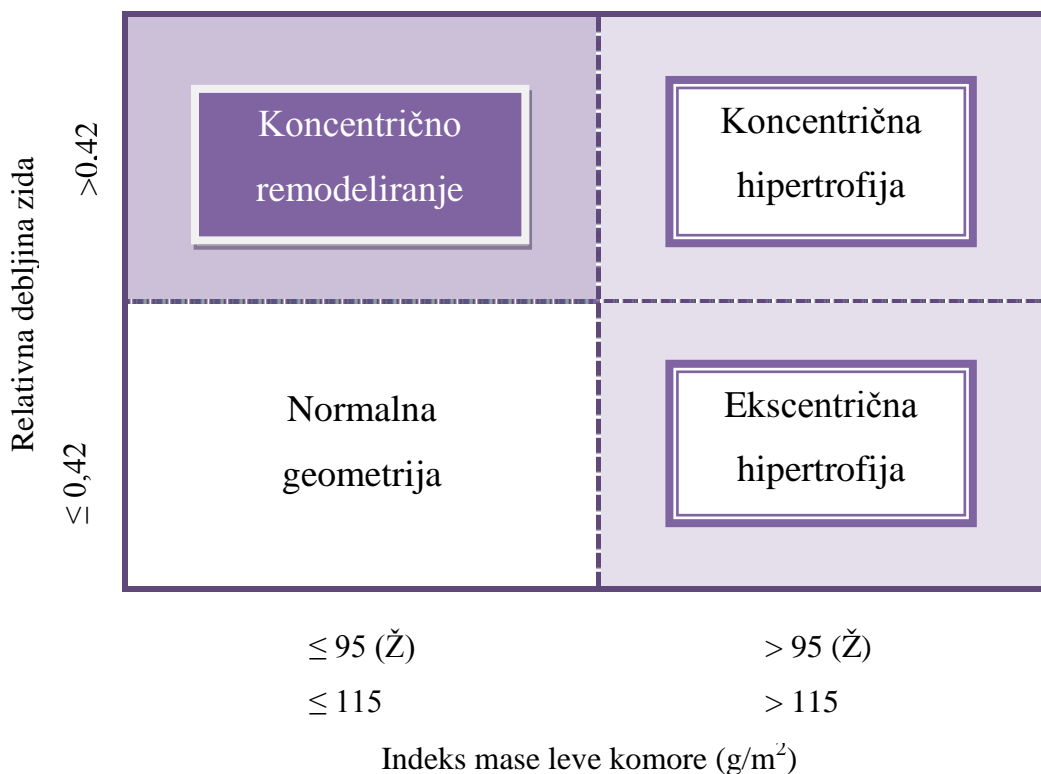
$$EF = [(EDV - ESV)/EDV] \times 100,$$

gde se EDV i ESV izračunavaju dvodimenzionalno vodjenom jednodimenzijском M-mod ehokardiografijom. Vrednosti EF veće od 55% smatraju se normalnim u svim studijama, dok je sistolna disfunkcija podeljena na: blagu (EF u rasponu od 45-54%), umerenu (od 30-44%) i tešku (vrednosti EF manje od 30%).

Frakciono skraćenje se izračunava po formuli koju su dali Quinones i Mason:

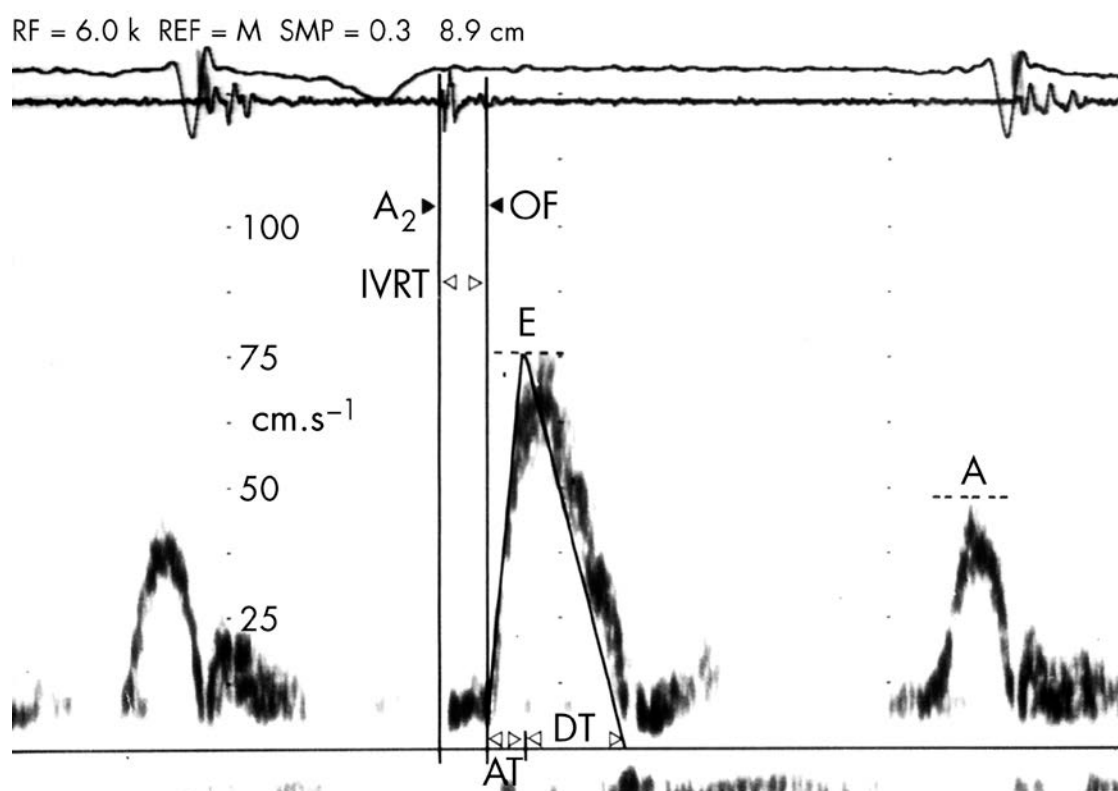
$$FS (\%) = (LVEDD - LVESD / LVEDD) \times 100$$

Vrednosti FS koje su veće od 25% su smatrane za normalne.



Shema 1. Poredjenje relativne debljine zida (RWT). Bolesnici sa normalnim masom leve komore mogu imati ili koncentrično remodeliranje (RWT>0,42) ili normalnu geometriju leve komore (RWT≤0,42). Bolesnici sa povećanom masom leve komore mogu imati ili koncentričnu (RWT>0,42) ili ekscentričnu hipertrofiju (RWT≤0,42). Ova merenja mase leve komore se zasnivaju na linearnim merenjima

Dijastolna funkcija je procenjena pomoću parametara dijastolne funkcije, koji se odredjuju pulsnom Doppler ehokardiografskom tehnikom u apikalnom položaju 4 srčane šupljine sa volumenskim uzorkom u nivou vrhova mitralnih listića. Zapremina uzorka od 1 mm do 3 mm se plasira izmedju vrhova mitralnih listića tokom dijastole da bi se snimio jasan profil brzine. Kao osnovni parametri za procenu dijastolne funkcije leve komore korišćeni su maksimalna brzina rane faze komorskog punjenja (talas E, cm/s), maksimalna brzina kasne faze komorskog punjenja (talas A, cm/s), odnos E/A (račun iz dobijenih vrednosti), vreme deceleracije talasa E (DT, ms) i izovolumetrijsko vreme relaksacije (IVRT, ms) dobijeno plasiranjem kursora u izlazni trakt leve komore do simultanog prikazivanja završetka aortne eejkcije i početka mitralnog protoka. Izovolumetrijsko vreme relaksacije definiše se kao vreme od zatvaranja aortne valvule do otvaranja mitralne valvule. Vreme deceleracije E talasa definiše se kao vreme koje protekne od vrha E talasa do preseka nulte linije.



Slika 2. Normalni parametri transmitralnog protoka mereni pulsnom Doppler ehokardiografijom pokazuju rani dijastolni (E) i kasni dijastolni (A) protok. Interval od A₂ na fonokardiogramu do početka protoka predstavlja izovolumetrijsko vreme

relaksacije (IVRT). Interval od početka protoka do maksimalne vrednosti (vrha krive) predstavlja vreme akceleracije (AT), i od vrha krive do kraja E talasa, vreme decelaracije (DT).

Prema najnovijim stavovima, smatra se da je starost najvažniji kriterijum u definisanju normalnih vrednosti parametara mitralnog protoka i vremenskih intervala. Sa starenjem, vrednosti E i E/A opadaju, a vrednosti DT i A rastu, tabela 11. Kao što se može videti, E/A odnos u dobnoj grupi od 21 do 40 godina ima normalne vrednosti od $1,5\pm 0,4$, od 41 do 60 godina $1,3\pm 0,2$ i preko 60 godina $1,0\pm 0,2$, dok je prosečna vrednost za sve životne dobi $1,32\pm 0,42$. Normalne vrednosti za IVRT se kreću u rasponu od 50-100 ms, a za DT 150-200 ms (290). Osim dijastolne funkcije leve komore i pritisaka punjenja, i brojne druge varijable utiču na mitralni protok, kao što su srčana frekvenca i ritam, PR interval, minutni volumen, veličina mitralnog anulusa i funkcija leve pretkomore.

Tabela 11. Normalne vrednosti ehokardiografskih parametara dijastolne funkcije izraženih kao srednja vrednost sa standardnom devijacijom.

<i>Parametri</i>	Starosna grupa (godine)		
	21 - 40	41 - 60	>60
IVRT (ms)	67±8	74±7	87±7
Odnos E/A	1.53±0.40	1.28±0.25	0.96±0.18
DT (ms)	166±14	181±19	200±29
A (ms)	127±13	133±13	138±19
Septalni E' (cm/s)	15.5±2.7	12.2±2.3	10.4±2.1
Septalni odnos E'/A'	1.6±0.5	1.1±0.3	0.85±0.2
Lateralni E' (cm/s)	19.8±2.9	16.1±2.3	12.9±3.5
Lateralni odnos E'/A'	1.9±0.6	1.5±0.5	0.9±0.4

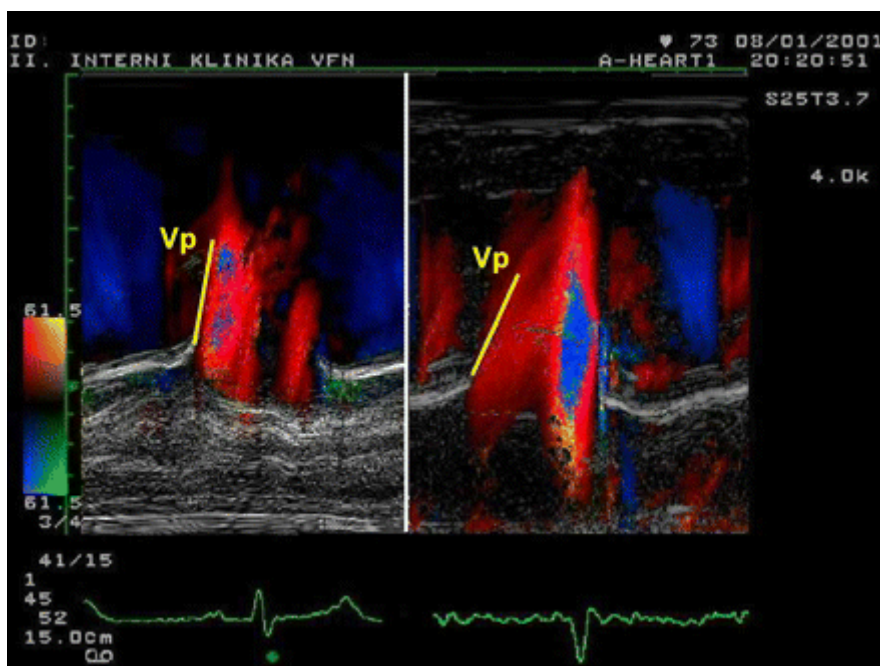
Obrasci mitralnog protoka se identifikuju korišćenjem odnosa E/A i DT. Oni uključuju normalno punjenje LV, pogoršanu relaksaciju LV, pseudonormalno punjenje i restriktivno punjenje LV. Određivanje pseudonormalnog obrasca punjenja LV može biti teško samo na osnovu parametara mitralnog protoka. Naime, vrednosti E talasa primarno odražavaju gradijent pritiska između LA i LV tokom rane dijastole i stoga na njih utiče *preload* i poremećaji relaksacije LV. Vrednosti A talasa reflektuju gradijent

pritiska između LA i LV tokom kasne dijastole, te na njih utiče komplijansa LV i kontraktilna funkcija LA. Vreme deceleracije talasa E je određeno relaksacijom LV, dijastolnim pritiscima LV nakon otvaranja mitralne valvule i komplijansom LV (tj. vezom između pritiska i volumena LV). Promene u end-sistolnim i/ili end-dijastolnim volumenima LV, elastičnim osobinama LV i/ili dijastolnim pritiscima LV direktno utiču na parametre mitralnog protoka (E talas, DT i IVRT). Klinička primena ima značaja kod bolesnika sa dilatativnom kardiomiopatijom, jer varijable pulsno Doppler-a i obrasci punjenja bolje koreliraju sa pritiscima punjenja, funkcionalnom klasom i prognozom nego EF leve komore. Kod bolesnika sa koronarnom arterijskom bolešću i sa hipertrofičnom kardiomiopatijom koji imaju EF $\geq 50\%$, vrednosti mitralnog protoka slabo koreliraju sa hemodinamskim vrednostima (289).

Za procenu dijastolne funkcije miokarda leve komore pored merenja brzine protoka kroz mitralnu valvulu pulsni Doppler-om i merenja brzine miokarda tkivnim Doppler-om, koristi se i merenje brzine napredovanja protoka krvi kroz levu komoru (V_p , cm/s), kolor Doppler-om. V_p se u svakodnevnoj praksi meri kao nagib na zapisu kolor M-mod Doppler-a, koji prikazuje protok krvi od baze leve komore prema vrhu leve komore obično u dužini od 4 cm. Zapis M-mod kolor Doppler-a beleži se u vidu dve crvene trake sa nagibom u desno, gde prva traka označava protok krvi u fazi brzog punjenja leve komore (E talas), a druga manja traka označava atrijalnu fazu (A talas). Iz zapisa se nagib od strane posmatrača najjasnije vidi ako se skala brzine protoka smanji do prikaza frekventnog prebacivanja (aliasing), i vidi se kao svetla linija druge boje, te je nagib prve linije aliasinga upotrebljen za automatsko određivanje brzine propagacije. Merenje se obavlja u prikazu leve komore u apikalnom preseku četiri šupljine kada se vide sve četiri supljine srca iz pravca vrha srca (291). Snimanje se obavlja u vreme zadržavanja disanja pri kraju ekspirijuma (izdisaj). $V_p > 50$ cm/s se smatra normalnom (289).

U normalnoj LV, rani talas komorskog punjenja se propagira brzo ka apeksu i njegova brzina je određena gradijentom pritiska između baze LV i apeksa. Tokom srčane insuficijencije i ishemije miokarda, postoji usporavanje propagacije mitralnog protoka u skladu sa redukcijom apikalne sukucije. Kod većine ovih bolesnika sa sniženom EF V_p je redukovana, ali osobe sa normalnim volumenom LV i normalnom EF, a sa povećanim pritiscima punjenja mogu imati normalnu vrednost V_p . Najveći značaj metode se ipak

ogleda u preciznom razlikovanju normalnog od pseudonormalnog protoka. Naime, prilikom procene dijastolne funkcije leve komore isključivo merenjem transmitralnog protoka pulsni Doppler-om ne može se pouzdano razlikovati normalan tok krvi od pseudonormalnog toka, koji je već drugi stepen poremećaja dijastolne funkcije. Međutim, normalne vrednosti parametara pulsni Doppler-a u kombinaciji sa sniženim vrednostima V_p upućuju na obrazac pseudonormalnog punjenja (289).

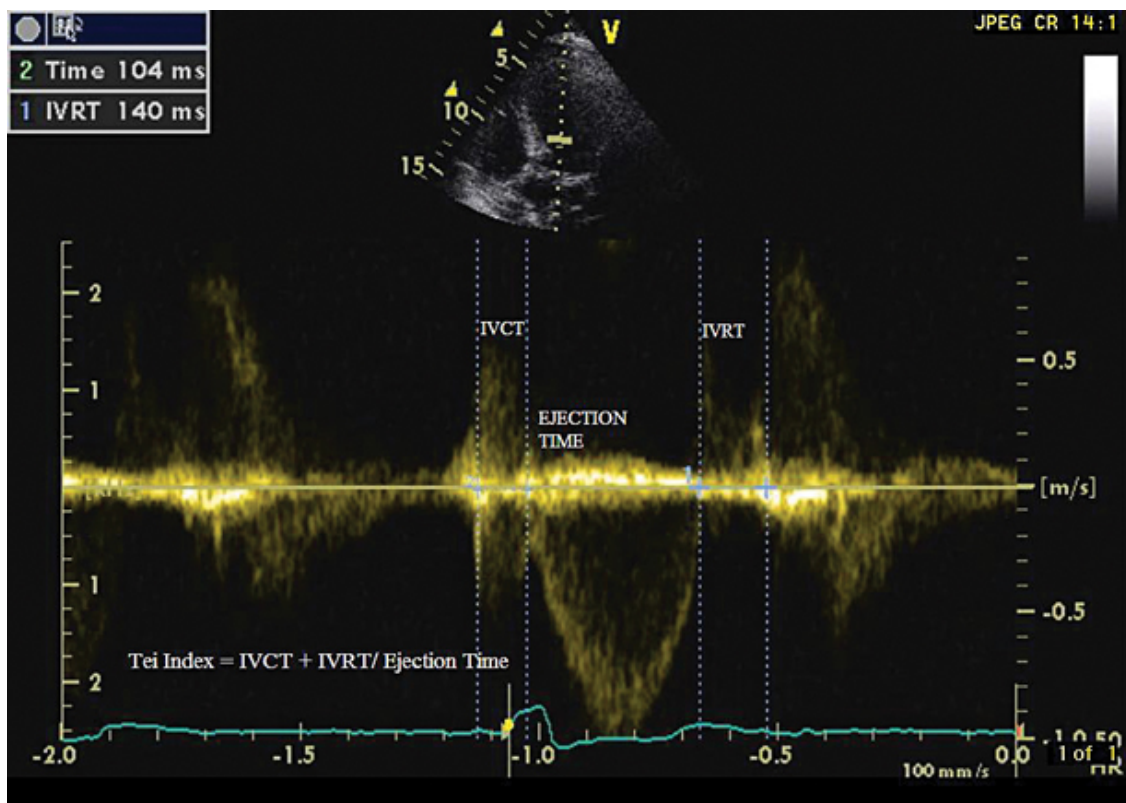


Slika 3: Merenje brzine propagacije mitralnog protoka putem M mod kolor Doppler-a, određene nagibom prve linije aliasinga tokom rane faze punjenja komore (svetla linija). Pacijent sa normalnom dijastolnom funkcijom LV ($V_p \geq 50 \text{ cm/s}$), levo i pacijent sa abnormalnom dijastolnom funkcijom LV ($V_p < 50 \text{ cm/s}$), desno. V_p , flow propagation velocity.

Globalna funkcija leve komore se najbolje može proceniti pomoću Tei indeksa, koji se takodje naziva i indeks miokardne performanse (MPI – *myocardial performance index*) ili indeks miokardnog učinka. Tei je kombinovani indeks sistolne i dijastolne funkcije i izračunava se na sledeći način (292):

$$Tei\ index = \frac{IVRT + IVCT}{LVET}$$

(IVRT – izovolumetrijsko vreme relaksacije; IVCT – izovolumetrijsko vreme kontrakcije; LVET – vreme ejeckije leve komore). Normalne vrednosti su ispod 0.40, siva zona je u rasponu od 0.40 do 0.50, dok smo patološkim smatrali vrednosti više od 0.50.



Slika 4. Izračunavanje Tei indeksa

3.3.2.1. Tehnika pregleda tkivnim Doppler-om

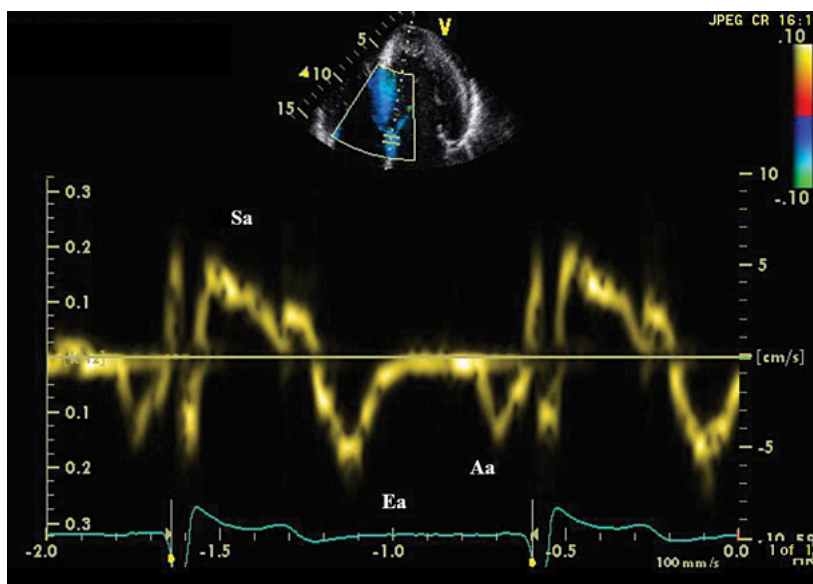
Tradicionalna ehokardiografska procena dijastolne funkcije zasniva se na dobijanju informacija merenjem transmitalnog protoka konvencionalnom Doppler tehnikom. Obrasci punjenja LV dobijeni na ovaj način povezani su sa dijastolnom funkcijom LV pomoću krive U oblika, sa sličnim vrednostima kod zdravih odraslih osoba i kod srčanih bolesnika. Faktori koji otežavaju interpretaciju parametara transmitalnog protoka su

sinusna tahikardija, poremećaji sprovođenja i aritmije. Međutim, problemi vezani za prepoznavanje pseudonormalnog punjenja LV i dijastolne srčane insuficijencije kod bolesnika sa normalnom EF bili su glavni podsticaj za razvoj drugih metoda za procenu dijastolne funkcije, kao što je to tehnika tkivnog Doppler-a ili TDI.

Stoga se danas za procenu dijastolne funkcije LV u indikovanim slučajevima paralelno koristi TDI, sa preporukom merenja tkivnih Doppler signala na septalnim i lateralnim stranama mitralnog anulusa i izračunavanja njihove prosečne vrednosti, čime se uzima u obzir uticaj regionalne funkcije na dobijene parametre. Primarna merenja uključuju sistolne (V'), rane dijastolne (E') i kasne dijastolne (A') vrednosti (289). E' reflektuje brzinu rane relaksacije miokarda prilikom podizanja mitralnog anulusa tokom faze brzog punjenja leve komore. Maksimalna brzina E' se može meriti na bilo kom delu mitralnog anulusa iz apikalnih preseka. Zbog intrinzične razlike u orijentaciji miokardnih vlakana, septalne E' brzine su neznatno niže od lateralnih brzina (293). Stoga je dijastolna disfunkcija definisana kao septalna E' vrednost <8 cm/s, a lateralna E' vrednost <10 cm/s (294). Lateralna E' brzina može dostizati i veće vrednosti od 20 cm/s kod dece i zdravih mladih odraslih osoba. Ove vrednosti opadaju sa starošću. Kod odraslih osoba starijih od 30 godina, lateralna E' brzina veća od 12 cm/s ukazuje na normalnu dijastolnu funkciju. Redukcija lateralne E' brzine ≤ 8 cm/s kod sredovečne ili starije osobe povezana je sa oštećenom relaksacijom leve komore i može pomoći u razlikovanju normalnog od pseudonormalnog mitralnog protoka (295). Hemodinamske determinante E' vrednosti su relaksacija LV, *preload*, sistolna funkcija i minimalni pritisak LV. Glavne hemodinamske determinante koje određuju A' uključuju sistolnu funkciju LA i LVEDP (end-dijastolni pritisak leve komore), tako što povećanje kontraktilnosti LA vodi povećanju vrednosti A' , dok povećanje LVEDP vodi smanjenju A' (296).

Nakon kompletiranja konvencionalnog ehokardiograma, izvršena su merenja tkivnih brzina miokarda primenom TDI u apikalnom prikazu sa volumenskim uzorkom pozicioniranim na septalnoj i lateralnoj strani mitralnog anulusa, unutar 1cm od mesta insercije mitralnih listića. Parametri tkivnog Doppler-a mereni su u sistoli, kao i ranoj i kasnoj dijastoli. Sistolna funkcija miokarda je procenjena merenjem maksimalne sistolne brzine u septalnom i lateralnom delu mitralnog anulusa ($V's$ i $V'l$), dok je

dijastolna funkcija procenjena merenjem maksimalne brzine septalnog i lateralnog dela mitralnog anulusa u ranoj fazi dijastole (E's i E'l) i merenjem maksimalne brzine septalnog i lateralnog dela mitralnog anulusa u kasnoj fazi dijastole (A's i A'l). Za procenu pritiska punjenja leve komore, zabeležena je prosečna brzina E'a dobijena kao srednja vrednost iz vrednosti izmerenih na septalnoj i lateralnoj strani mitralnog anulusa, koja je potom upotrebljena za izračunavanje odnosa E/E'. Kako je septalna E' obično niža nego lateralna, odnos E/E' dobijen korišćenjem septalnih signala je obično viši nego odnos E/E' dobijen sa lateralne strane. Kada se koristi septalni E/E' odnos, vrednost manja od 8 je obično udružena sa normalnim pritiscima punjenja LV, dok je vrednost veća od 15 povezana sa povišenim pritiscima punjenja LV, a vrednost između 8 i 15 će zahtevati primenu drugih ehokardiografskih indeksa. Nedavne studije su pokazale da lateralni tkivni Doppler signali (E/E' i E'/A') kod bolesnika sa normalnom EF pokazuju najbolju korelaciju sa pritiscima punjenja LV i invazivnim indeksima krutosti LV. Kod srčanih bolesnika, E' se može koristiti za korekciju efekata relaksacije LV na mitralnu E vrednost, a odnos E/E' se može koristiti za predviđanje pritiska punjenja LV. Odnos E/E' nije precizan kao indeks pritiska punjenja kod zdravih osoba ili kod bolesnika sa teškim anularnim kalcifikacijama, mitralnom valvularnom bolešću i konstriktivnim perikarditisom (289).



Slika 5. Profil kolor tkivnog Doppler-a na slikovnom prikazu ilustruje sistolnu Sa vrednost i dijastolne Ea i Aa vrednosti, izmerene na septalnoj strani mitralnog anulusa.

3.3.3. KLINIČKA I EHOKARDIOGRAFSKA PROCENA FUNKCIJE LEVE KOMORE

Kliničkom i ehokardiografskom procenom mogu se prepoznati 4 različite faze dijastolne funkcije, od normalne do uznapredovale disfunkcije. Najnoviji EAE/ASE kriterijumi, slično prethodnim kriterijumima Kanadskog konsenzusa o dijastolnoj disfunkciji, inkorporiraju parametre dijastolne funkcije izmerene pulsni Doppler-om i tehnikom tkivnog Doppler-a. Postoje 3 stepena dijastolne disfunkcije: blaga ili gradus I (oštećena relaksacija), umerena ili gradus II (pseudonormalni obrazac punjenja) i teška ili gradus III (restriktivni tip punjenja). Na važnost ove podele ukazuje činjenica da čak i asimptomatski bolesnici sa prvim stepenom dijastolne disfunkcije imaju 5 puta veći trogodišnji do petogodišnji mortalitet u poredjenju sa osobama čija je dijastolna funkcija normalna. Medjutim, navedeni obrasci nisu specifični za pojedine bolesti već reprezentuju spektar na koji mogu uticati starenje i promene hemodinamskih varijabli, pa prilikom procene dijastolne funkcije treba uzeti u obzir godine starosti i srčanu frekvencu. Kako većina osoba starijih od 60 godina bez istorije kardiovaskularnih bolesti ima odnos $E/A < 1$ i $DT > 200$ ms, takve vrednosti u odsustvu drugih indikatora kardiovaskularne bolesti (npr, LVH) se mogu smatrati normalnim za dato životno doba. Zato je kod ovih osoba potreban naročiti oprez pre donošenja zaključka o postojanju prvog stepena dijastolne disfunkcije.

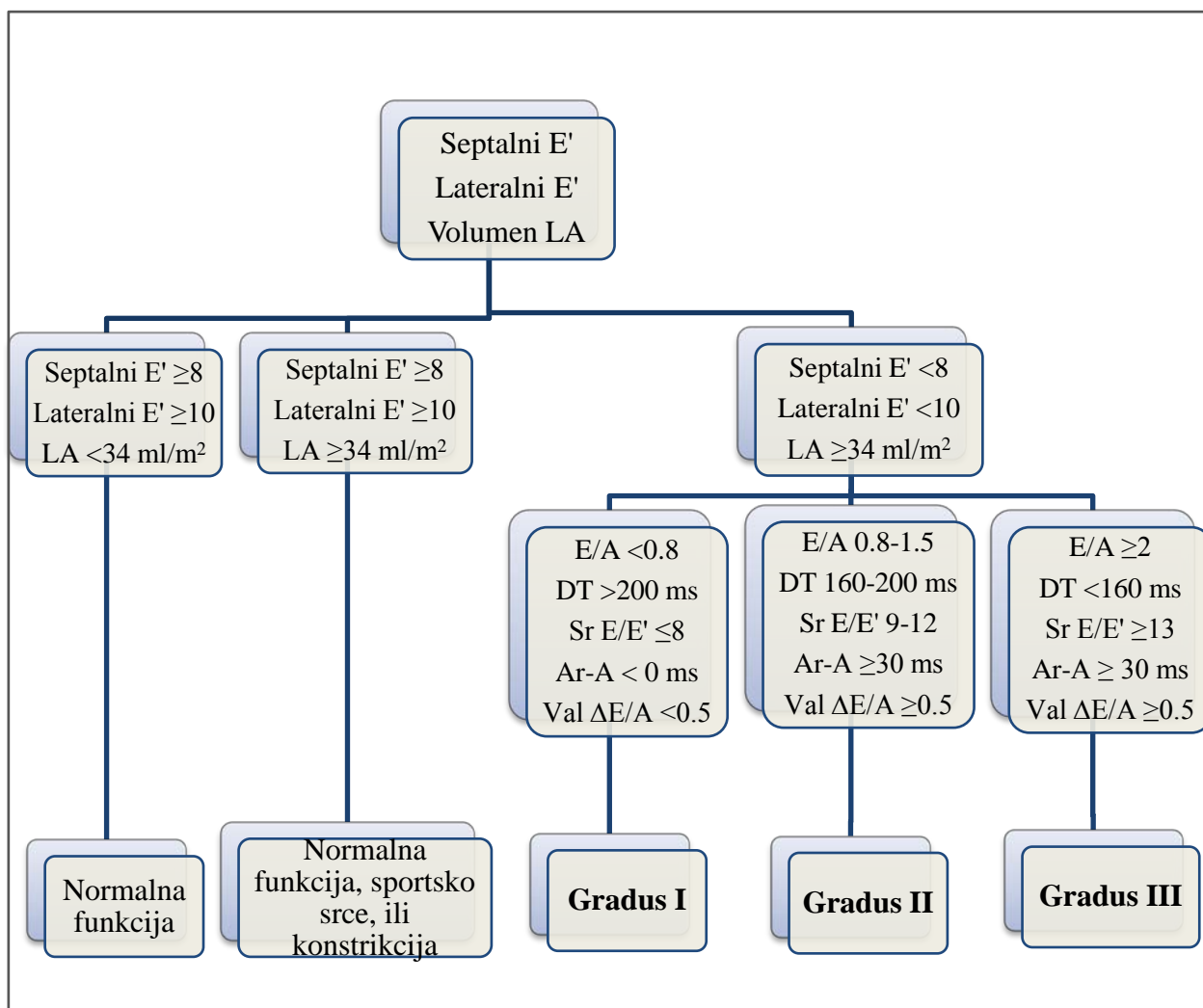
Gradus 1 (abnormalna relaksacija). Ovaj obrazac se vidja kod bolesnika sa redukovanom brzinom relaksacije leve komore, ali relativno normalnom komplijansom i pritiscima punjenja. Bolesnici tipično imaju samo blage simptome ili su asimptomatski, i mogu imati blago uvećanje leve pretkomore. Kod bolesnika sa blagom dijastolnom disfunkcijom, mitralni E/A odnos je < 0.8 , DT je > 200 ms, $IVRT \geq 100$ ms, u plućnom venskom protoku sistolna komponenta protoka je predominantna ($S > D$), anularni E' je < 8 cm/s, i E/E' odnos je < 8 (septalni ili lateralni). Ovi pacijenti imaju redukovanu dijastolnu rezervu koja se može otkriti stres testovima. Medjutim, redukovani mitralni odnos E/A u prisustvu normalnih anularnih TDI vrednosti može se videti i kod zdravih osoba sa deplecijom vaskularnog volumena, tako da se odnos E/A ne treba univerzalno koristiti za zaključivanje o prisustvu dijastolne disfunkcije. Odnos $E/A < 0.8$ uglavnom nije udružen sa povišenim srednjim pritiskom LA, izuzev kod nekih

pacijenta sa teško oštećenom relaksacijom miokarda, kao što je dugotrajna hipertenzija ili hipertrofična kardiomiopatija.

Gradus 2 (pseudonormalna). Ovaj obrazac je često najteže prepoznati, pošto su Doppler indeksi punjenja slični onima koje nalazimo kod zdravih osoba. Brzina relaksacije leve komore i komplijansa su redukovane, ali pritisci punjenja su sada povećani kao kompenzatorni mehanizmi u održavanju minutnog volumena. Bolesnici imaju blage do umerene simptome prepunjenosti vaskularnog korita i različite stepene uvećanja leve pretkomore. Takodje su često prisutni i drugi dokazi strukturne bolesti srca, kao što su povećanje volumena i mase leve komore i snižena EF. Bolesnici sa umerenom dijastolnom disfunkcijom imaju mitralni E/A odnos 0.8 do 1.5 (pseudonormalni) i ovaj odnos se smanjuje za više od 50% tokom Valsalva manevra, DT 160-200 ms, prosečni odnos E/E' je 9-13, a E' je <8cm/s. Drugi parametri koji podržavaju ovaj tip dijastolne disfunkcije uključuju brzinu povratnog pulmonalnog talasa Ar (A reversal) >30 cm/s i S/D odnos <1. Kod nekih bolesnika sa umerenom dijastolnom disfunkcijom, LVEDP je jedini pritisak koji je povišen (tj. srednji pritisak LA je normalan) i prepoznaje se produženim trajanjem vremenske razlike između povratnog pulmonalnog talasa Ar i talasa atrijske kontrakcije A u mitralnom protoku, tj $Ar - A \geq 30$ ms. Drugi stepen dijastolne disfunkcije predstavlja pogoršanje relaksacije miokarda sa blagim do umerenim porastom pritiska punjenja LV.

Gradus 3 (restriktivno punjenje). Teška dijastolna disfunkcija se vidja u prisustvu dubokih abnormalnosti komplijanse leve komore i značajno povećanog pritiska punjenja. Relaksacija leve komore je značajno smanjena (jedini izuzetak su bolesnici sa izolovanim konstriktivnim perikarditisom). Bolesnici imaju ispoljenu srčanu insuficijenciju i umereno do teško uvećanje leve pretkomore. Očigledne su ehokardiografske karakteristike uznapredovale strukturne srčane bolesti. Sa teškom dijastolnom disfunkcijom, pojavljuje se restriktivni obrazac punjenja sa odnosom E/A ≥ 2 , DT <160 ms, sistolnom frakcijom punjenja $\leq 40\%$, kraćim trajanjem mitralnog talasa A nego Ar, i prosečnim odnosom E/E' >13 (ili septalni E/E' ≥ 15 i lateralni E/E' >12). Dobrim odgovorom na terapiju kod nekih bolesnika se punjenje LV može poboljšati do stepena oštećene relaksacije (gradus IIIa), dok kod drugih obrazac punjenja LV ostaje

restriktivni (gradus IIIb), što je zlosutan znak koji predviđa visoki rizik kardijalnog morbiditeta i mortaliteta (289, 297).



Shema 2. Algoritam za stepenovanje dijastolne disfunkcije (*modifikovano iz reference br. 289*)

3.3.4. EHOSONOGRAFSKI PREGLED KAROTIDNIH ARTERIJA

Ehosonografski pregled karotidnih arterija uradjen je sonografijom visoke rezolucije na ultrazvučnom aparatu marke "Toshiba Power Vision 6000 " u B modu, u realnom vremenu, sa smanjenjem dubine insonacije do 5cm radi postizanja uvećanja slike i ručnim merenjem debljine intime-medijske (DIM) . Korišćena je linearna sonda frekvencije 7.5 MHz koja daje najbolju prostornu rezoluciju. Pregled je obavljen u lako zamračenoj, klimatizovanoj prostoriji na temperaturi od 20° C. Ispitanici su prethodno mirovali 20 minuta radi adaptacije na mikroklimatske uslove, a tokom pregleda ležali su opuštano u položaju supinacije sa glavom postavljenom 45% kontralateralno u odnosu na središnji položaj.

Merenje debljine intime-medijske izvršeno je na zadnjem zidu zajedničke karotidne arterije, 0,5–1 cm proksimalno od početka karotidnog bulbosa. U B modu sonografije zadnji zid se longitudinalno prikazuje u vidu 2 svetle paralelne linije odvojene hipoehogenim prostorom. Unutrašnja linija zadnjeg zida potiče od granice između lumena i intime, dok spoljašnja linija potiče od granice između medijske i adventicije (298). Debljina intime-medijske (DIM) je definisana kao rastojanje između ivice koje odgovara spoju lumen-intima i ivice koja odgovara spoju medijske-adventicije (299). Na longitudinalnom preseku desne i leve zajedničke karotidne arterije duž sekcije duge 20 mm na zadnjem zidu učinjena su po 3 merenja na kraju dijastole, na mestu bez fokalnih plakova, gde je debljina zida vizuelno procenjena kao najveća i to na četvorostrukom uveličanju. Srednja vrednost izračunata iz 3 merenja upotrebljena je za definisanje DIM.

Pre merenja debljine intime-medijske izvršen je detaljan pregled prednjeg i zadnjeg zida distalnog dela a. carotis communis u dužini od 2 cm, karotidnog bulbosa i proksimalnog dela a. carotis interne (2cm), u longitudinalnoj i transverzalnoj projekciji radi otkrivanja prisustva plakova i kalcifikacija. Karotidni plak se definiše kao prisustvo fokalnog zadebljanja zida koje je bar 50% veće od okolnog zida krvnog suda ili kao fokalni region sa DIM većom od 1,5 mm koji protudira u lumen (300, 301). Prisustvo plakova, kao i prisustvo kalcifikacija je analizirano u levoj karotidnoj arteriji, desnoj karotidnoj arteriji i obostrano. Kalcifikacije su definisane kao visoko ehogeni plakovi koji proizvode blještave bele ehoe sa senkom (302). Rasprostranjenost kalcifikacija je

rangirana na sledeći način: Gr 1 – odsustvo kalcifikacija; Gr 2 – unilateralne kalcifikacije; Gr 3 – bilateralne kalcifikacije;

3.4. STATISTIČKA ANALIZA

Prikupljeni podaci su uneti u računar u obliku datoteke pogodne za statističku obradu podataka. U radu je korišćen PC kompatibilan računar na bazi procesora PENTIUM pod Windows XP operativnim sistemom, dok je korisnički softver obuhvatao Microsoft Excel i statistički paket SPSS 16.0.

Na nivou deskriptivne statistike korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana, mod) i mere varijabiliteta (standardna devijacija, standardna greška).

Na nivou interferencijalne statistike, značajnost hipoteza istraživanja je testirana Studentovim t-testom i Mann Whitney-evim testom za numerička obeležja, a Hi kvadrat testom i Fisher-ovim testom egzaktne verovatnoće za atributivna obeležja. Značajnost razlika između 3 grupe ispitanika sa različitim nivoom bubrežne funkcije je ispitana pomoću analize varijansnog količnika (jednosmernim ANOVA testom), a potvrđena je Post hoc testom kojim su izvršene multiple komparacije između različitih grupa unutar istog obeležja. Korelacije između kontinuiranih vrednosti su procenjene upotrebom Pearson-ovog koeficijenta korelacije za parametarske podatke. Za proveru normalnosti raspodele kontinuiranih varijabli korišćeni su statistički testovi Kolmogorov Smirnov i Shapiro Wilk, analiza Skewness-Curtosis vrednosti i grafičke metode (histogrami frekvencija). Varijable koje su pokazale odstupanje od normalne raspodele podvrgnute su logaritamskoj transformaciji u cilju poboljšanja distribucije vrednosti. Multivarijantna linearna regresiona analiza je upotrebljena da determiniše varijable koje su nezavisno povezano sa nivoom kardijalnih biomarkera. U finalne modele uključene su samo varijable statistički značajne u univarijantnoj analizi ($p < 0.05$).

Multivarijantna Cox regresiona analiza je upotrebljena da bi procenili nezavisnu prognostičku vrednost kardijalnih biomarkera za ukupni i kardiovaskularni mortalitet, neželjene kardiovaskularne događaje i progresiju ka terminalnoj fazi HBB. Sve demografske, kliničke i ehosonografske varijable koje su u univarijantnoj analizi pokazale statistički značajnu povezanost sa ishodom, analizirane su udruženo u

multivarijantnoj Cox-regresionoj analizi. U Cox-ovom modelu je korišćen *forward stepwise* metod, kojim su se uklanjale promenljive sa verovatnoćom $p < 0.05$. Za analizu preživljavanja korišćena je Kaplan Meier-ova metoda, a Kaplan-Meier krive preživljavanja su međusobno poredjene Log-Rank testom. Procena vrednosti kardijalnih biomarkera u prognostičkoj stratifikaciji bolesnika izvršena je na osnovu analize površine ispod ROC (*receiver-operating characteristics*) krive.

Sve prikazane p vrednosti su bile *two-sided* i vrednost verovatnoće $p < 0.05$ prihvaćena je kao statistički značajna.

4. REZULTATI

4.1. OSNOVNI PODACI O ISPITANICIMA

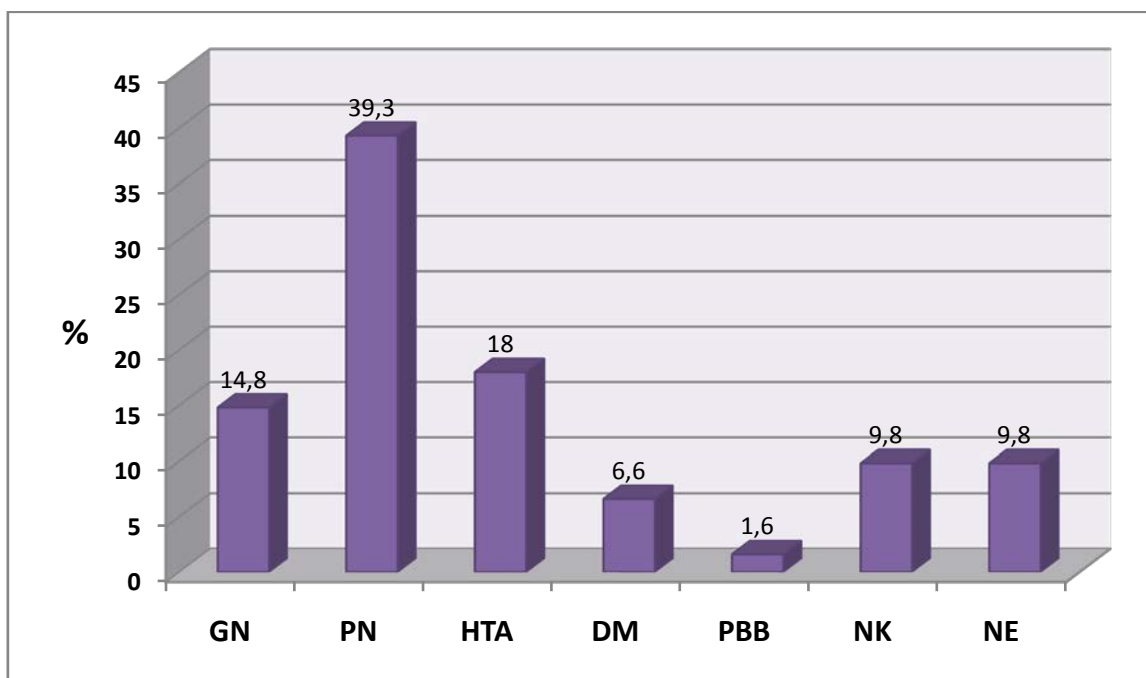
4.1.1. KLINIČKE I DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA

U studiji su učestvovala 83 osobe, 46 muškaraca i 37 žena, prosečne starosti 62.9 ± 12.5 godina. Prosečna vrednost telesne težine je iznosila 71.7 ± 16.9 kg, telesne visine 165.6 ± 10 cm, i BMI 26.0 ± 4.9 kg/m². Od ukupnog broja je bilo 33 pušača, 20 aktuelnih i 13 bivših, čiji je pušački staž iznosio prosečno 31.0 ± 15.7 godina, a prosečan broj popušanih cigareta dnevno 19.7 ± 14.1 . Prosečna vrednost sistolnog krvnog pritiska izmerenog u čitavoj grupi bila je 139.5 ± 18.3 mmHg, dijastolnog krvnog pritiska 83.5 ± 9.8 mmHg, a izračunatog srednjeg arterijskog pritiska 102.2 ± 11.7 mmHg.

Ekperimentalna grupa je bila sačinjena od 61 bolesnika u IV ili V fazi HBB pre početka dijaliznog lečenja, 34 muškaraca (55.7%) i 27 žena (44.3%). Prosečna starost je iznosila 62.6 godine sa odstupanjem od 13.6. Najmladji bolesnik je imao 23, a najstariji 85 godina. Bolesnici su se lečili i kontrolisali zbog poznate HBB prosečno 6.5 godina, sa odstupanjem od 5.2, u rasponu od 1 do 27 godina. Prosečna vrednost GFR izračunata putem MDRD formule je iznosila 15.8 ± 5.7 ml/min. Od ukupnog broja, imali smo 31 bolesnika u IV fazi HBB, sa prosečnim CCr 20.2 ± 4.4 ml/min i 30 bolesnika u V fazi HBB pre početka dijaliznog lečenja, sa prosečnom vrednošću CCr 11.3 ± 2.4 ml/min. Medju bolesnicima u IV fazi HBB bilo je 22 muškarca i 9 žena, prosečne starosti 60.5 ± 13.7 godina, dok je medju bolesnicima u V fazi HBB bilo 12 muškaraca i 18 žena, prosečne starosti 64.8 ± 13.4 godina.

Uzroci HBB bili su: hronični glomerulonefritis kod 9 (14.7%) bolesnika, hronični pijelonefritis kod 24 (39.3%) bolesnika, hipertenzija kod 11 (18%) bolesnika, *diabetes mellitus* kod 4 (6.6%) bolesnika, policistična bolest bubrega kod 1 (1.6%) bolesnika, dok su neklasifikovani uzroci bili prisutni kod 6 (9.8%) bolesnika, a nepoznati uzroci takodje kod 6 (9.8%) bolesnika. Zastupljenost pojedinih bubrežnih bolesti u etiologiji HBB, prikazana je na grafikonu 1.

Grafikon 1. Etiologija hronične bubrežne bolesti



Legenda: GN – Glomerulonephritis chronica; PN – Pyelonephritis chronica; HTA – Hypertensio arterialis; DM – Diabetes mellitus; PBB – Policistična bolest bubrega; NK – Neklasifikovani uzroci; NE – Nepoznati uzroci;

U bolesničkoj grupi, prosečna telesna težina ispitanika bila je 71.1 ± 18.0 kg, prosečna telesna visina 164.9 ± 9.6 cm, a prosečna vrednost body mass index-a 26.1 ± 5.3 kg/m². Od ukupno 26 pušača, 13 je bilo bivših, pri čemu je prosečno trajanje pušačkog staža iznosilo 31.5 ± 16.2 godine, a prosečan broj popušanih cigareta 19.7 ± 15.1 na dan. Prosečna vrednost sistolnog krvnog pritiska je bila 139.9 ± 20.2 mmHg, dijastolnog krvnog pritiska 83.6 ± 11.1 mmHg, a srednjeg arterijskog pritiska 102.4 ± 13.0 mmHg. Od hipertenzije je bolovalo 54 (88.5%) bolesnika, od kojih se 13 lečilo monoterapijom, 24 dvojnomo terapijom, a 17 bolesnika je koristilo kombinacije 3 ili više lekova. Od antihipertenzivnih lekova, najzastupljeniji u terapiji su bili inhibitori angiotenzin konvertaze (n=50), zatim blokatori kalcijumskih kanala (n=36) i β -blokatori (n=17), dok je mali broj bolesnika koristio blokatore angiotenzinskih receptora (n=3) ili methyl-dopu (n=2). I pored terapije, 13 (24.1%) bolesnika je navelo da nema zadovoljavajuće regulisan krvni pritisak. Bolesnici su u različitoj meri upotrebljavali ostale lekove koji se uobičajeno koriste u HBB: diuretike Henleove petlje, zatim vezače fosfata, vitamine

B, C, D i E. *Diabetes mellitus* je bio prisutan kod 4 (6.6%) bolesnika, od kojih je 3 primalo insulin. Porodična anamneza je bila pozitivna na kardiovaskularne bolesti kod 34 (55.7%) bolesnika, pri čemu je najzastupljenija bila hipertenzija (n=28), zatim šlog (n=16) i infarkt miokarda (n=5), a najmanje gangrena donjih ekstremiteta (n=1). Od ostalih hereditarnih bolesti, u porodičnoj anamnezi su bile prisutne hronična bubrežna bolest (n=10) i *diabetes mellitus* (n=9).

Kontrolna grupa je bila sačinjena od 22 ispitanika, 12 muškaraca (54.5%) i 10 žena (45.5%). Prosečna starost je bila 63.7 godina, sa odstupanjem od 9 godina, najmladji ispitanik je imao 47 godina, a najstariji 79 godina. Prosečna telesna težina je iznosila 73.3 ± 13.7 kg, telesna visina 167.7 ± 11.2 cm, a prosečna vrednost body mass index-a je bila 26.0 ± 3.5 kg/m². U kontrolnoj grupi je bilo 7 (31.8%) aktuelnih pušača čiji je pušački staž iznosio prosečno 29.9 ± 14.5 godina, sa prosečno 20.0 ± 10.4 popušenih cigareta dnevno. Prosečni sistolni krvni pritisak je bio 138.4 ± 11.9 mmHg, dijastolni krvni pritisak 83.4 ± 5.2 mmHg, a srednji arterijski pritisak 101.7 ± 7.1 mmHg. Osobe iz kontrolne grupe nisu lečene od arterijske hipertenzije.

Poredjenjem grupe bolesnika i kontrolne grupe po polu, zaključeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji frekvencija po polu ($\chi^2=0.009$; p=0.923). Takođe, prihvaćena je nulta hipoteza po kojoj ne postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima starosti između ispitanika sa HBB i ispitanika u kontrolnoj grupi (t=-0.333; p=0.740). Na osnovu toga se može reći da su ove 2 grupe ispitanika bile ujednačene u odnosu na pol i starost. Statistički pokazatelji osnovnih podataka koji se odnose na bolesničku i kontrolnu grupe, kao i značajnost razlike prikazani su u tabelama 12 i 13.

Tabela 12. Osnovne kliničke i demografske karakteristike ispitanika i značajnost razlika između bolesničke i kontrolne grupe (t-test)

Karakteristike	Bolesnička grupa (n=61)	Kontrolna grupa (n=22)	t	p
Starost (godine, $X_{sr} \pm SD$)	62.6 \pm 13.6	63.7 \pm 9.0	-0.333	0.698
TT (kg, $X_{sr} \pm SD$)	71.1 \pm 18.0	73.3 \pm 13.7	-0.510	0.612
BMI (kg/m^2 , $X_{sr} \pm SD$)	26.1 \pm 5.3	26.0 \pm 3.5	0.031	0.976
SKP (mmHg, $X_{sr} \pm SD$)	139.9 \pm 20.2	138.4 \pm 11.9	0.416	0.679
DKP (mmHg, $X_{sr} \pm SD$)	83.6 \pm 11.1	83.4 \pm 5.2	0.110	0.913
SAP (mmHg, $X_{sr} \pm SD$)	102.4 \pm 13.0	101.7 \pm 7.1	0.283	0.778

Tabela 13. Osnovne kliničke i demografske karakteristike ispitanika i značajnost razlika između bolesničke i kontrolne grupe (χ^2 test)

Karakteristike	Bolesnička grupa (n=61)	Kontrolna grupa (n=22)	χ^2	p
Muški pol, n (%)	34 (55.7)	12 (54.5)	0.009	0.923
Pozitivna istorija pušenja, n (%)	26 (42.6)	7 (31.8)	0.788	0.375

4.1.2. LABORATORIJSKE KARAKTERISTIKE ISPITANIKA

Da bi se pokazala eventualna odstupanja u bolesničkoj grupi koje su posledica uznapredovalog stadijuma HBB, laboratorijskim putem smo određivali osnovne hematološke analize i biohemijske parametre bubrežne funkcije, lipidnog, nutritivnog i inflamatornog statusa [Hb, Hct, Le, SE, fibrinogen, kreatinin, urea, ac. uricum, proteini, albumini, holesterol, LDL, HDL, VLDL, trigliceridi, Na, K, Ca, P, CaxP, alkalna fosfataza, PTH, Fe, TSAT] kod svih ispitanika. Korišćenjem metoda deskriptivne statistike dobili smo mere centralne tendencije i mere varijabiliteta, koje smo koristili za upoređivanje dobijenih vrednosti između bolesničke i kontrolne grupe. Statistički pokazatelji vrednosti laboratorijskih parametara u dve grupe ispitanika i značajnost razlike prikazani su u tabeli 14.

Tabela 14. Laboratorijske karakteristike ispitanika i značajnost razlike između bolesničke i kontrolne grupe

Laboratorijske karakteristike	Bolesnička grupa ($\bar{X} \pm SD$)	Kontrolna grupa ($\bar{X} \pm SD$)	t	p
Hemoglobin (g/l)	102.9±16.6	139.2±12.3	-9.367	0.000
Hematokrit (%)	28.7±5.1	38.6±4.5	-8.062	0.000
Le ($n \times 10^9/l$)	7.3±2.0	6.0±1.1	3.770	0.000
Sedimentacija Er (mm/h)	42.0±22.2	11.7±8.6	8.957	0.000
Ukupni proteini (g/l)	65.8±7.9	67.7±6.7	-1.007	0.317
Albumini (g/l)	39.0±6.3	39.9±3.6	-0.827	0.411
Fibrinogen (g/l)	4.0±1.2	3.1±0.9	2.840	0.006
Holesterol (mmol/l)	5.5±1.4	5.4±1.1	0.394	0.695
LDL kolesterol (mmol/l)	3.3±1.2	3.5±1.1	-0.422	0.674
HDL kolesterol (mmol/l)	1.2±0.3	1.3±0.2	-0.744	0.459
VLDL kolesterol (mmol/l)	1.0±0.7	0.6±0.4	2.267	0.026
Trigliceridi (mmol/l)	2.1±1.3	1.4±0.9	2.400	0.019
Acidum uricum (mmol/l)	380.2±106.6	239.0±86.6	5.575	0.000
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	355.0±112.4	74.4±16.1	18.962	0.000
Urea (mmol/l)	18.5±5.5	6.1±2.0	14.996	0.000
Na (mmol/l)	140.0±5.3	138.8±7.9	0.811	0.420
K (mmol/l)	5.3±0.8	4.1±0.5	6.634	0.000
Ca (mmol/l)	2.4±0.2	2.5±0.2	-3.244	0.002
P (mmol/l)	1.3±0.3	1.0±0.2	5.300	0.000
CaxP (mmol/l^2)	3.1±0.7	2.5±0.5	3.313	0.001
Alkalna fosfataza (U/l)	82.8±40.2	71.3±19.4	1.287	0.202
PTH (pg/l)	153.8±125.9	34.7±22.9	4.396	0.000
Serumsko Fe ($\mu\text{mol/l}$)	10.5±4.1	14.0±5.3	-3.203	0.002
Zasićenje transferina (%)	22.1±11.1	27.9±9.4	-2.173	0.033

Kao što se iz tabele može videti, između bolesničke i kontrolne grupe postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima osnovnih hematoloških parametara. Prosečni nivoi hemoglobina i hematokrita u bolesničkoj grupi bili su niži nego u kontrolnoj grupi, sa razlikom koja se pokazala visoko statistički značajnom ($p < 0.001$). Prosečne vrednosti serumskog Fe takodje su bile statistički značajno niže u bolesničkoj u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0.01$), kao i prosečni nivo zasićenja transferina ($p < 0.05$). Od

parametara inflamatornog statusa, zabeležene su značajno više prosečne vrednosti leukocita ($p < 0.001$), brzine sedimentacije eritrocita ($p < 0.001$) i fibrinogena ($p < 0.01$) u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi. Prosečne vrednosti ukupnih proteina, albumina, holesterola, HDL holesterola i LDL holesterola se nisu statistički značajno razlikovale izmedju 2 grupe, mada je u prosečnim vrednostima VLDL holesterola i triglicerida izmedju dve grupe dobijena statistički značajna razlika na nivou $p < 0.05$. Od biohemijskih parametara bubrežne funkcije, nadjena je statistički visoko značajna razlika ($p < 0.001$) izmedju prosečnih vrednosti kreatinina, uree i acidum uricumum u bolesničkoj i u kontrolnoj grupi. Takodje, u bolesničkoj grupi zabeležene su značajno veće prosečne vrednosti K ($p < 0.001$) u odnosu na kontrolnu grupu. Od minerala koštanog metabolizma, prosečne vrednosti Ca u bolesničkoj grupi bile su značajno niže ($p < 0.01$) nego u kontrolnoj grupi, dok su vrednosti P bile značajno više ($p < 0.001$), kao i vrednosti proizvoda CaxP ($p = 0.001$). Razlika u prosečnim vrednostima alkalne fosfataze izmedju dve grupe nije se pokazala kao statistički značajna, ali je razlika izmedju viših vrednosti PTH u bolesničkoj grupi i nižih u kontrolnoj grupi bila visoko statistički značajna ($p < 0.001$).

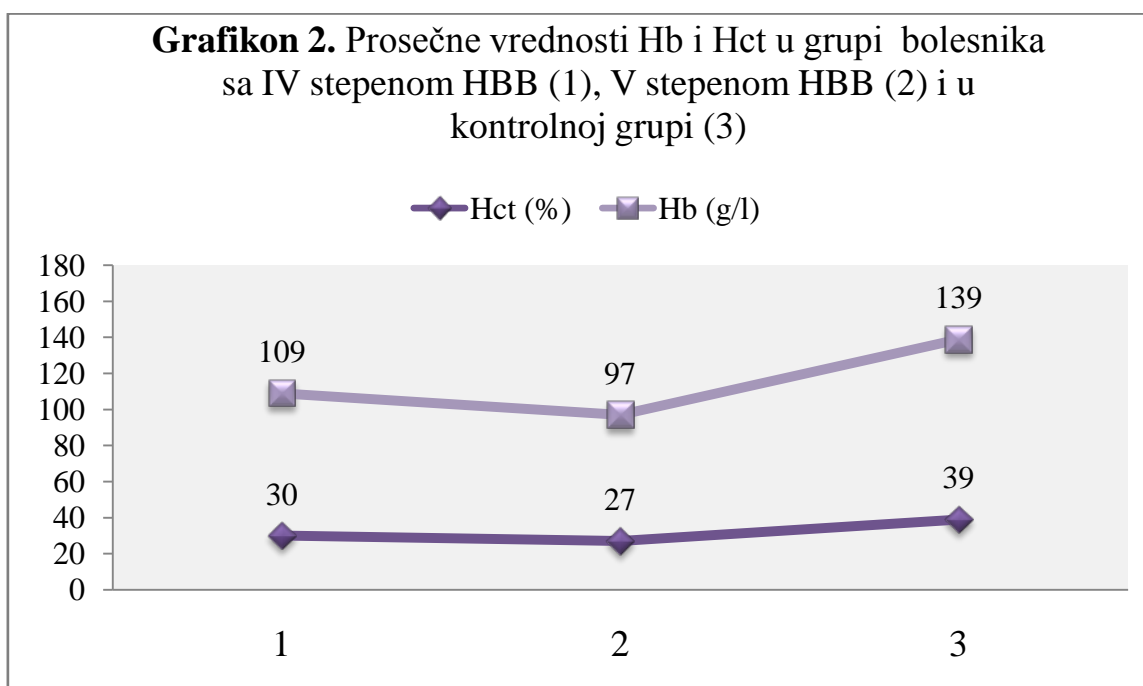
Dalje je bolesnička grupa podeljena u 2 podgrupe na osnovu vrednosti GFR, koja je izračunata pomoću MDRD formule: grupu 1, u koju su svrstani bolesnici sa IV fazom HBB ($n = 31$) i grupu 2, u koju su svrstani bolesnici sa V fazom HBB ($n = 30$). Kontrolna grupa je obeležena kao grupa 3. Za ispitivanje značajnosti razlike u prosečnim vrednostima pojedinih laboratorijskih parametara izmedju tri grupe, upotrebljena je jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA). U sledećoj tabeli, prikazani su osnovni statistički pokazatelji laboratorijskih parametara i značajnost razlike u njihovim prosečnim vrednostima izmedju zdravih osoba i bolesnika sa različitim stepenima HBB.

Tabela 15. Značajnost razlike u prosečnim vrednostima laboratorijskih parametara izmedju grupa sa različitim stepenom HBB i kontrolne grupe

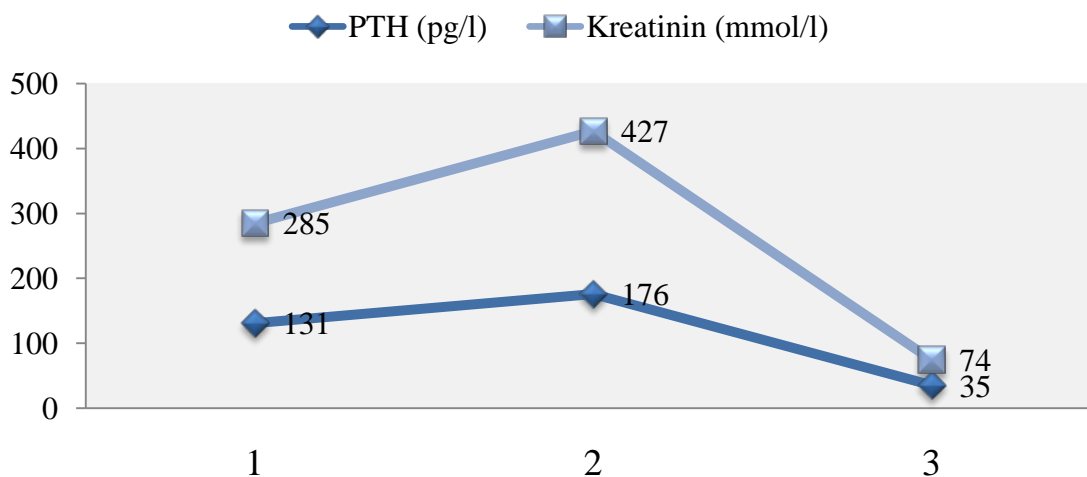
Laboratorijski parametri	Grupa	N	Xsr	SD	Min	Max	F	p
Hemoglobin (g/l)	1	31	109.2	15.0	75	135	55.398	0.000
	2	30	96.7	15.8	68	124		
	3	22	139.2	12.3	120	171		
	Ukupno	83	112.5	22.4	68	171		
Hematokrit (%)	1	31	30.5	4.7	22	40	40.415	0.000
	2	30	26.8	4.8	18	36		
	3	22	38.6	4.5	31	50		
	Ukupno	83	31.3	6.6	18	50		
Le ($n \times 10^9/l$)	1	31	7.7	1.8	4.1	12.6	6.154	0.003
	2	30	6.9	2.1	3.6	11.7		
	3	22	6.0	1.1	4.5	9.2		
	Ukupno	83	7.0	1.9	3.6	12.6		
Sedimentacija Er (mm/h)	1	31	41.3	22.0	12	110	19.155	0.000
	2	30	42.7	22.8	10	94		
	3	22	11.7	8.6	3	42		
	Ukupno	83	34.0	23.7	3	110		
Fibrinogen (g/l)	1	31	4.1	1.3	2.4	7.6	4.767	0.011
	2	30	3.8	1.2	2.4	7.4		
	3	22	3.1	0.9	2.0	5.2		
	Ukupno	83	3.7	1.2	2.0	7.6		
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	1	31	285.0	53.3	185	374	139.133	0.000
	2	30	427.3	112.0	251	713		
	3	22	74.4	16.1	56	114		
	Ukupno	83	280.6	157.6	56	713		
Urea (mmol/l)	1	31	16.9	4.7	8.8	28.3	59.799	0.000
	2	30	20.2	5.9	8.9	32.2		
	3	22	6.1	2.0	3.4	11.0		
	Ukupno	83	15.3	7.3	3.4	32.2		
Ac. uricum ($\mu\text{mol/l}$)	1	31	411.3	106.0	223	614	19.667	0.000
	2	30	348.1	99.0	202	612		
	3	22	239.0	86.6	104	433		
	Ukupno	83	342.8	119.0	104	614		
Proteini (g/l)	1	31	68.8	7.1	53	85	6.183	0.003
	2	30	62.6	7.6	50	79		
	3	22	67.7	6.7	50	79		
	Ukupno	83	66.3	7.6	50	85		

Albumini (g/l)	1	31	40.9	5.7	28	52	4.038	0.021
	2	30	37.1	6.3	28	47		
	3	22	39.9	3.6	32	46		
	Ukupno	83	39.3	5.6	28	52		
K (mmol/l)	1	31	5.4	0.7	4.1	6.8	22.865	0.000
	2	30	5.2	0.8	4.1	7.4		
	3	22	4.1	0.5	3.4	5.7		
	Ukupno	83	5.0	0.9	3.4	7.4		
Ca (mmol/l)	1	31	2.4	0.2	2.0	2.8	5.452	0.006
	2	30	2.3	0.1	2.1	2.7		
	3	22	2.5	0.2	2.0	2.9		
	Ukupno	83	2.4	0.2	2.0	2.9		
P (mmol/l)	1	31	1.2	0.2	0.8	1.6	13.457	0.000
	2	30	1.4	0.4	0.8	2.2		
	3	22	1.0	0.2	0.8	1.6		
	Ukupno	83	1.2	0.3	0.8	2.2		
CaxP (mmol/l)²	1	31	2.9	0.5	1.9	4.2	9.009	0.000
	2	30	3.3	0.8	1.8	5.1		
	3	22	2.5	0.5	1.9	3.5		
	Ukupno	83	2.9	0.7	1.8	5.1		
Alkalna fosfataza (U/l)	1	31	76.7	25.8	30	161	1.773	0.176
	2	30	89.2	50.8	44	318		
	3	22	71.3	19.4	43	117		
	Ukupno	83	79.8	36.2	30	318		
PTH (pg/l)	1	31	131.5	86.8	13.3	324.9	11.223	0.000
	2	30	176.9	154.6	4.4	608.4		
	3	22	34.7	22.9	6.1	100.0		
	Ukupno	83	122.3	120.5	4.4	608.4		
Serumsko Fe (μmol/l)	1	31	10.6	4.0	4.5	17.6	5.085	0.008
	2	30	10.4	4.3	4.6	22.1		
	3	22	14.0	5.3	7.4	24.1		
	Ukupno	83	11.4	4.7	4.5	24.1		
Proteinurija (g/l)	1	31	0.6	0.6	0.0	2.9	5.538	0.022
	2	30	1.3	1.6	0.0	7.8		
	3	22	0.0	0.0	0.0	0.0		
	Ukupno	61	1.0	1.2	0.0	7.8		

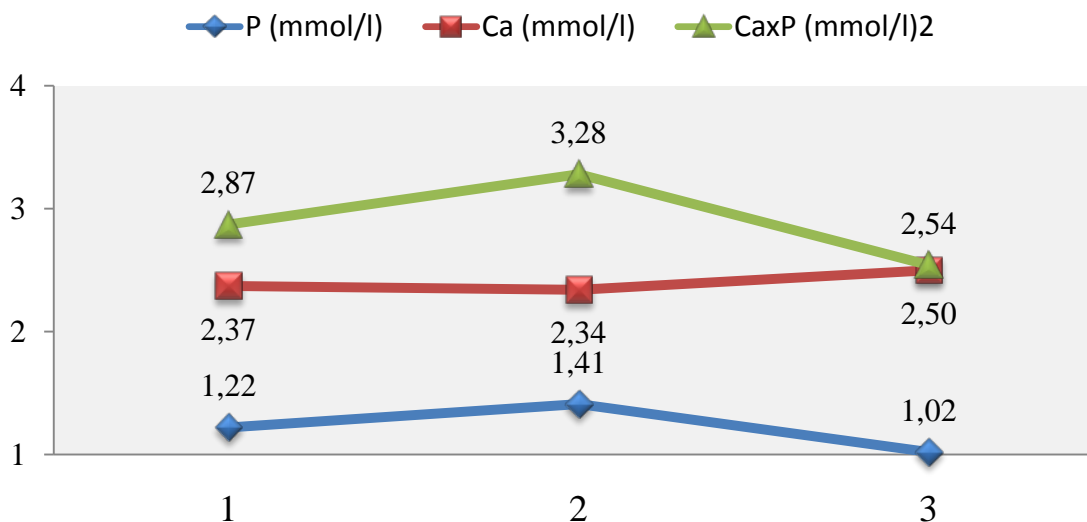
Primenom jednofaktorske analize varijanse, utvrdili smo da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima sledećih hematoloških parametara: hemoglobina ($p < 0.001$), hematokrita ($p < 0.001$) i nivoa serumskog gvoždja ($p < 0.01$). Takođe, postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima parametara inflamatornog i nutritivnog statusa: broja leukocita ($p < 0.01$), brzine sedimentacije eritrocita ($p < 0.001$), fibrinogena ($p < 0.05$), ukupnih proteina ($p < 0.01$) i albumina ($p < 0.05$). Prosečne vrednosti parametara bubrežne funkcije su se takođe statistički značajno razlikovale između grupa: uree ($p < 0.001$), kreatinina ($p < 0.001$), acidum uricumum ($p < 0.001$), kalijuma ($p < 0.001$) i proteinurije ($p < 0.05$). Statistički značajna razlika je zabeležena i u prosečnim vrednostima minerala koštanog metabolizma: kalcijuma ($p < 0.01$), fosfora ($p < 0.001$) i njihovog proizvoda Ca_xP ($p < 0.001$), kao i nivoa PTH ($p < 0.001$) između različitih grupa. Prosečne vrednosti pojedinih laboratorijskih parametara u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB, V stepenom HBB i u kontrolnoj grupi, prikazani su na grafikonima 2, 3 i 4.



Grafikon 3. Prosečne vrednosti kreatinina i PTH u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi (3)



Grafikon 4. Prosečne vrednosti serumskog Ca, P i proizvoda CaxP u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi (3)



S obzirom da je ANOVA pokazala da postoji značajan medjgrupni varijabilitet u vrednostima pojedinih laboratorijskih parametara, uradili smo Post Hoc analizu koja je pokazala značajne razlike izmedju pojedinih grupa (tabela 16). Izmedju grupa 1 i 2 (bolesnici sa IV i V fazom HBB) zabeležene su značajne razlike u nivou Hb ($p=0.001$),

Hct ($p<0.01$), kreatinina ($p<0.001$), uree ($p<0.01$), acidum uricum ($p<0.05$), ukupnih proteina ($p=0.001$), albumina ($p<0.01$), P ($p<0.01$) i proizvoda CaxP ($p<0.05$). Između grupa 1 i 3 (bolesnici sa IV fazom HBB i kontrolna grupa) zabeležene su značajne razlike u nivou Hb ($p<0.001$), Hct ($p<0.001$), Le ($p=0.001$), SE ($p<0.001$), fibrinogena ($p<0.01$), kreatinina ($p<0.001$), uree ($p<0.001$), acidum uricum ($p<0.001$), K ($p<0.001$), Ca ($p<0.05$), P ($p=0.01$), PTH ($p<0.01$), serumskog Fe ($p<0.01$) i zasićenja transferina ($p<0.05$). Između grupa 2 i 3 (bolesnici sa V fazom HBB i kontrolne grupa) zabeležene su značajne razlike u nivou Hb ($p<0.001$), Hct ($p<0.001$), SE ($p<0.001$), kreatinina ($p<0.001$), uree ($p<0.001$), acidum uricum ($p<0.001$), ukupnih proteina ($p<0.05$), K ($p<0.001$), Ca ($p<0.01$), P ($p<0.05$), proizvoda CaxP ($p<0.001$), PTH ($p<0.001$) i serumskog Fe ($p<0.01$).

Tabela 16. Statistička značajnost razlike u ispitivanim parametrima između 3 grupe ispitanika

Laboratorijski parametri	Između grupa	Srednja razlika (I-J)	p
Hemoglobin (g/l)	grupe 1 i 2	12.795*	0.001
	grupe 1 i 3	-30.066*	0.000
	grupe 2 i 3	-42.861*	0.000
Hematokrit (%)	grupe 1 i 2	0.03684*	0.003
	grupe 1 i 3	-0.08152*	0.000
	grupe 2 i 3	-0.11836*	0.000
Le ($n \times 10^9/l$)	grupe 1 i 2	0.84860	0.069
	grupe 1 i 3	1.75103*	0.001
	grupe 2 i 3	0.90242	0.077
Sedimentacija Er (mm/h)	grupe 1 i 2	-1.378	0.786
	grupe 1 i 3	29.673*	0.000
	grupe 2 i 3	31.052*	0.000
Fibrinogen (g/l)	grupe 1 i 2	0.35204	0.236
	grupe 1 i 3	0.98871*	0.003
	grupe 2 i 3	0.63667	0.052
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	grupe 1 i 2	-142.366*	0.000
	grupe 1 i 3	210.559*	0.000

	grupe 2 i 3	352.924 [*]	0.000
Urea (mmol/l)	grupe 1 i 2	-3.25806 [*]	0.008
	grupe 1 i 3	10.78739 [*]	0.000
	grupe 2 i 3	14.04545 [*]	0.000
Ac. uricum (μmol/l)	grupe 1 i 2	63.125 [*]	0.015
	grupe 1 i 3	172.213 [*]	0.000
	grupe 2 i 3	109.088 [*]	0.000
Proteini (g/l)	grupe 1 i 2	6.17312 [*]	0.001
	grupe 1 i 3	1.12463	0.577
	grupe 2 i 3	-5.04848 [*]	0.014
Albumini (g/l)	grupe 1 i 2	3.86882 [*]	0.007
	grupe 1 i 3	0.98094	0.522
	grupe 2 i 3	-2.88788	0.064
K (mmol/l)	grupe 1 i 2	0.21903	0.229
	grupe 1 i 3	1.27449 [*]	0.000
	grupe 2 i 3	1.05545 [*]	0.000
Ca (mmol/l)	grupe 1 i 2	0.03097	0.502
	grupe 1 i 3	-0.12903 [*]	0.012
	grupe 2 i 3	-0.16000 [*]	0.002
P (mmol/l)	grupe 1 i 2	-0.19054 [*]	0.007
	grupe 1 i 3	0.19795 [*]	0.010
	grupe 2 i 3	0.38848 [*]	0.000
CaxP (mmol/l)²	grupe 1 i 2	-0.40418 [*]	0.014
	grupe 1 i 3	0.33503	0.059
	grupe 2 i 3	0.73921 [*]	0.000
PTH (pg/l)	grupe 1 i 2	-45.45757	0.104
	grupe 1 i 3	96.77664 [*]	0.002
	grupe 2 i 3	142.23421 [*]	0.000
Serumsko Fe (μmol/l)	grupe 1 i 2	0.21333	0.853
	grupe 1 i 3	-3.44545 [*]	0.007
	grupe 2 i 3	-3.65879 [*]	0.005
Zasićenje transferina (%)	grupe 1 i 2	-0.02363	0.393
	grupe 1 i 3	-0.06960 [*]	0.023
	grupe 2 i 3	-0.04597	0.132

4.2. KARDIOVASKULARNI STATUS ISPITANIKA

Kardiovaskularni status ispitanika iz bolesničke i kontrolne grupe procenjen je ehokardiografskim pregledom, ehosonografskim pregledom karotidnih arterija, kao i laboratorijskim određivanjem vrednosti kardijalnih biomarkera. Ehokardiografskim pregledom je izvršena strukturalna i funkcionalna procena miokarda (procena sistolne i dijasistolne funkcije leve komore), dok je ehosonografskim pregledom leve i desne karotidne arterije kod svakog ispitanika procenjena debljina intime-medije, prisustvo plakova i kalcifikacija. Od kardijalnih biomarkera, određivali smo vrednosti hsCRP-a, BNP-a, NTproBNP-a, TnT-a i TnI u krvi svih ispitanika.

4.2.1. EHOKARDIOGRAFSKI PARAMETRI I EHOSONOGRAFSKE KARAKTERISTIKE KAROTIDNIH ARTERIJA

Ehokardiografski pregledi ispitanika uradjeni su standardnom metodom i metodom tkivnog Doppler-a, a prosečne vrednosti dobijenih parametara upoređivane su između bolesničke i kontrolne grupe. Značajnost razlike u prosečnim vrednostima dobijenih parametara ehokardiografskog pregleda prikazana je u tabeli 17.

Tabela 17. Značajnost razlike u prosečnim vrednostima ehokardiografskih parametara kardiovaskularnog statusa između bolesničke i kontrolne grupe

Varijable	Bolesnička grupa ($X_{sr} \pm SD$)	Kontrolna grupa ($X_{sr} \pm SD$)	t-test	p
LA (mm)	43.8±4.9	40.5±4.4	2.746	0.007
PWTd (mm)	11.0±1.3	9.4±1.2	4.926	0.000
IVSTd (mm)	11.9±1.5	10.5±6.9	5.724	0.000
LVEDD (mm)	51.5±5.5	51.2±4.9	0.189	0.851
LVESD (mm)	33.9±4.9	33.9±4.9	0.035	0.972
RWT	0.43±0.07	0.37±0.04	4.934	0.000
LVmass (g)	298.2±79.7	239.0±56.8	3.193	0.002
LVMI (g/m^2)	170.0±48.9	129.7±24.1	4.972	0.000
IVCT (ms)	75.1±19.1	76.8±19.2	-0.345	0.731
LVET (ms)	311.3±54.3	326.2±30.1	-1.570	0.121
MPI	0.52±0.14	0.51±0.09	0.485	0.630
EF (%)	61.7±8.2	61.6±6.8	0.042	0.967
EF _{Simpson} (%)	56.6±8.4	57.6±4.7	-2.090	0.04
FS (%)	34.1±5.6	34.0±5.6	0.047	0.963

E (m/s)	0.54±0.13	0.63±0.23	-2.208	0.031
A (m/s)	0.63±0.17	0.79±0.24	-2.728	0.008
E/A	0.83±0.27	0.91±0.30	-1.118	0.267
DT (ms)	241.2±63.5	254.6±69.1	-0.828	0.410
IVRT (ms)	86.9±29.0	88.2±18.2	-0.232	0.817
V's (cm/s)	8.6±1.9	9.6±1.6	-2.125	0.037
V'l (cm/s)	10.0±2.6	9.5±1.8	0.837	0.405
E's (cm/s)	7.3±1.9	9.6±2.0	-4.743	0.000
A's (cm/s)	11.5±3.0	14.1±2.8	-3.472	0.001
E's/A's	0.66±0.22	0.70±0.19	-0.756	0.452
E/E's	9.1±3.9	5.8±1.9	5.031	0.000
E'l (cm/s)	10.0±3.0	11.6±2.4	-2.173	0.033
A'l (cm/s)	13.1±3.6	14.6±3.7	-1.715	0.09
E'l/A'l	0.80±0.28	0.84±0.29	-0.585	0.560
E/E'l	6.8±3.0	4.8±1.5	3.848	0.000
E'a/A'a	0.73±0.22	0.77±0.22	-0.705	0.483
E/E'a	7.6±3.3	5.2±1.5	4.561	0.000
Vp (cm/s)	39.6±9.6	46.3±9.8	-2.826	0.006
DIM_D (mm)	0.88 ± 19	0.70 ± 0.12	4.006	0.000
DIM_L (mm)	0.88 ± 0.17	0.74 ± 0.17	3.219	0.002
DIM_{SR} (mm)	0.88 ± 0.17	0.72 ± 0.14	3.897	0.000

Legenda: LA – leva pretkomora; PWTd – debljina zadnjeg zida leve komore; IVSTd – debljina interventrikularnog septuma; LVEDD – end-dijastolni dijametar leve komore; LVESD – end-sistolni dijametar leve komore; RWT – relativna debljina zida leve komore; LVmass – masa leve komore; LVMI – indeks mase leve komore; IVCT – izovolumetrijsko vreme kontrakcije; LVET – ejekciono vreme leve komore; MPI – myocardial performance index; EF – ejekciona frakcija; EF_{Simpson} - ejekciona frakcija po Simpsonovoj formuli; FS – frakcija skraćenja; V's – tkivna brzina septalnog dela mitralnog anulusa u sistoli (tkivni Doppler); V'l – tkivna brzina lateralnog dela mitralnog anulusa u sistoli (tkivni Doppler); E, A, E/A - maksimalna brzina rane faze komorskog punjenja, maksimalna brzina kasne faze komorskog punjenja i njihov odnos; DT – vreme deceleracije; IVRT – izovolumetrijsko vreme relaksacije; E's, E'l, E'a – tkivna brzina miokarda u ranoj dijastoli merena na septalnom i lateralnom uglu mitralnog anulusa (tkivni Doppler) i srednja vrednost ovih brzina; A's, A'l, A'a – tkivna brzina miokarda u kasnoj dijastoli merena na septalnom i lateralnom uglu mitralnog anulusa (tkivni Doppler) i srednja vrednost ovih brzina; E's/ A's, E'l/ A'l, E'a/A'a – odnos izmedju tkivnih brzina miokarda u ranoj i kasnoj dijastoli, merenih na septalnoj i lateralnoj strani mitralnog anulusa i odnos njihovih prosečnih vrednosti; E/E's, E/E'l, E/E'a - odnos izmedju brzina mitralnog protoka i tkivnih brzina mitralnog anulusa u ranoj dijastoli merenih septalno i lateralno, kao i odnos njihovih srednjih vrednosti (parametri izmereni konvencionalnom i Doppler metodom); Vp – brzina propagacije mitralnog protoka; DIM_L – debljina intime-medije leve karotidne arterije; DIM_D – debljina intime-medije desne karotidne arterije; DIM_{sr} – prosečna debljina intime-medije obe karotidne arterije

Strukturalni parametri ehokardiografskog pregleda su uglavnom imali značajno veće prosečne vrednosti u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi. Iz tabele se može videti da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima dijametra leve pretkomore između bolesničke i kontrolne grupe (LA: $p < 0.01$), dok je ta razlika visoko statistički značajna za debljinu zadnjeg zida leve komore (PWTD: $p < 0.001$) i debljinu interventrikularnog septuma (IVSTD: $p < 0.001$). U bolesničkoj grupi su takodje bile značajno veće prosečne vrednosti relativne debljine zida leve komore (RWT: $p < 0.001$), mase leve komore (LVmass: $p < 0.01$) i indeksa mase leve komore (LVMI: $p < 0.001$) nego u kontrolnoj grupi. Prosečne vrednosti dijametra leve komore na kraju sistole i na kraju dijastole nisu se značajno razlikovale između grupa.

Parametri sistolne funkcije leve komore mereni konvencionalnom metodom nisu se značajno razlikovali između 2 grupe, izuzev ejsione frakcije leve komore merene po Simpsonu čija je prosečna vrednost u bolesničkoj grupi bila značajno niža nego u kontrolnoj grupi ($p < 0.05$). Sniženu EF ($< 55\%$) kao parametar sistolne disfunkcije imalo je 12 (19.7%) bolesnika, ali ako je EF procenjena po Simpsonovoj metodi čak 21 (34.4%) bolesnik je imao sistolnu disfunkciju blagog ili umerenog stepena. FS $\leq 25\%$ zabeleženo je kod 4 (6.6%) bolesnika. Putem tkivnog Doppler-a, takodje su u bolesničkoj grupi pronadjene značajno niže brzine kretanja septalnog dela mitralnog anulusa u sistoli u odnosu na kontrolnu grupu (V_s , $p < 0.005$).

Od parametara dijastolne funkcije procenjenih tehnikom pulsog Doppler-a, jedino su se maksimalne brzine rane faze komorskog punjenja (E, $p < 0.05$) i maksimalne brzine kasne faze komorskog punjenja (A, $p < 0.01$) statistički značajno razlikovale između bolesničke i kontrolne grupe. Razlike u njihovom odnosu E/A, izovolumetrijskom vremenu relaksacije (IVRT) i vremenu deceleracije (DT) između grupa nisu pokazale statističku značajnost. Od parametara dijastolne funkcije procenjenih putem tkivnog Doppler-a, tkivne brzine miokarda u ranoj dijastoli merene na septalnom i lateralnom delu mitralnog anulusa su bile značajno niže u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi ($E's < 0.001$; $E'l < 0.05$). Tkivne brzine miokarda u kasnoj dijastoli na septalnom delu mitralnog anulusa (ali ne i lateralno) takodje su bile značajno niže u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi ($A's = 0.001$). U pogledu njihovog odnosa E'/A' nije postojala statistički značajna razlika između dve grupe. Medjutim, odnos između brzina mitralnog protoka

dobijenih konvencionalnom metodom i tkivnih brzina mitralnog anulusa u ranoj dijastoli izmerenih tkivnim Doppler-om, u grupi bolesnika je uvek bio viši nego u kontrolnoj grupi, sa statistički visoko značajnom razlikom ($E/E's$: $p<0.001$; $E/E'l$: $p<0.001$; $E/E'a$: $p<0.001$). Takođe, postoji statistički značajna razlika u brzini propagacije mitralnog protoka procenjenog putem M mod kolor Doppler-a između bolesničke i kontrolne grupe (Vp : $p<0.01$). Dijastolna disfunkcija definisana kao $E's < 8$ cm/sec, zabeležena je kod 37 bolesnika (60.6%).

Izmerene debljine intimo-medijalnog kompleksa na karotidnim arterijama su bile prosečno veće u grupi bolesnika nego u kontrolnoj grupi, sa razlikom koja se pokazala statistički značajnom (DIM_D : $p<0.001$; DIM_L : $p<0.01$; DIM_{SR} : $p<0.001$).

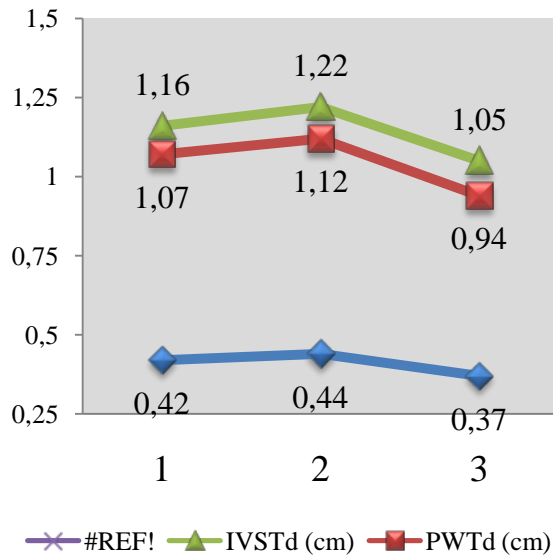
Primenom jednofaktorske analize varijanse, utvrdili smo da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima sledećih parametara srčane strukture između bolesnika sa IV i V stepenom HBB i kontrolne grupe (grupe 1, 2 i 3): LA ($p<0.05$), PWTd ($p<0.001$), IVSTd ($p<0.001$), RWT ($p<0.001$), LVmass ($p<0.01$) i LVMI ($p=0.001$). Što se tiče parametara sistolne funkcije leve komore, značajna razlika između grupa 1, 2 i 3 nadjena je samo u prosečnim vrednostima EF ($p<0.05$) i FS ($p<0.05$). Od parametara dijastolne funkcije leve komore dobijenih konvencionalnim pregledom, utvrđena je statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima E ($p<0.01$) i A ($p<0.05$) između 3 grupe, ali ne i njihovog odnosa E/A. Prosečne vrednosti parametara dijastolne funkcije dobijenih tkivnim Doppler-om, E's ($p<0.001$) i A's ($p=0.001$), se takođe značajno razlikuju između 3 grupe, ali razlika u njihovom odnosu ($E's/A's$) nije dostigla granicu statističke značajnosti. Statistički značajna razlika među grupama je utvrđena i u odnosu E/E's ($p=0.001$) kao parametru pritiska punjenja leve komore, kao i u brzini propagacije mitralnog protoka (Vp : $p<0.01$). Prosečna debljina intime-medije leve i desne karotidne arterije se statistički značajno razlikovala između grupa ($p=0.001$). Vrednosti varijansnog količnika (F) i značajnost razlike (p) se mogu pročitati iz tabele 18.

Tabela 18. Značajnost razlike u prosečnim vrednostima ehokardiografskih parametara izmedju grupa sa različitim stepenom HBB i kontrolne grupe

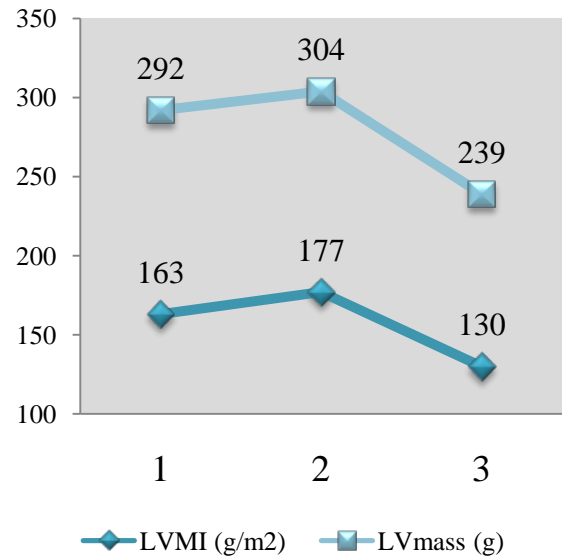
Ehokardiografski parametri	Grupa	N	Xsr	SD	Min	Max	F	p
LA (mm)	1	31	43.7	4.2	33.0	52.0	0.3748	0.028
	2	30	43.9	5.6	29.0	54.0		
	3	22	40.5	4.4	30.0	50.0		
	Ukupno	83	42.9	5.0	29.0	54.0		
PWTd (mm)	1	31	10.7	1.4	8	13.5	13.407	0.000
	2	30	11.2	1.1	8	13.5		
	3	22	9.4	1.2	7.8	11.4		
	Ukupno	83	10.5	1.4	7.8	13.5		
IVSTd (mm)	1	31	11.6	1.6	8	16	10.170	0.000
	2	30	12.2	1.4	9.4	16		
	3	22	10.5	0.7	8.9	12		
	Ukupno	83	11.5	1.5	8	16		
RWT	1	31	0.42	0.08	0.28	0.59	8.620	0.000
	2	30	0.44	0.06	0.35	0.58		
	3	22	0.37	0.04	0.30	0.47		
	Ukupno	83	0.41	0.07	0.28	0.59		
LVmass (g)	1	31	292.3	82.1	150	501	2.526	0.007
	2	30	304.3	78.1	179	457		
	3	22	239.0	56.8	148	339		
	Ukupno	83	282.5	78.5	148	501		
LVMI (g/m²)	1	31	163.0	50.1	91	313	7.677	0.001
	2	30	177.2	47.4	98	313		
	3	22	129.7	24.1	91	186		
	Ukupno	83	159.3	47.1	91	313		
EF (%)	1	31	64.2	6.7	50	75	3.501	0.035
	2	30	59.1	8.8	40	70		
	3	22	61.6	6.8	52	74		
	Ukupno	83	61.6	7.8	40	75		
FS (%)	1	31	35.8	4.5	27	44	3.238	0.044
	2	30	32.3	6.1	20	41		
	3	22	34.0	5.6	28	47		
	Ukupno	83	34.0	5.6	20	47		
EF Simpson (%)	1	31	55.6	9.2	30	72	1.878	0.160
	2	30	53.5	7.4	35	68		
	3	22	57.6	4.7	48	64		
	Ukupno	83	55.4	7.6	30	72		

V's (<i>cm/s</i>)	1	31	8.5	1.6	5.7	11.6	2.260	0.111
	2	30	8.6	2.3	5.1	14.5		
	3	22	9.6	1.6	7.3	12.9		
	Ukupno	83	8.9	1.9	5.1	14.5		
E (<i>m/s</i>)	1	31	0.70	0.27	0.35	1.3	5.135	0.008
	2	30	0.56	0.15	0.35	1		
	3	22	0.54	0.13	0.37	0.81		
	Ukupno	83	0.61	0.21	0.35	1.3		
A (<i>m/s</i>)	1	31	0.83	0.26	0.50	1.53	4.782	0.011
	2	30	0.74	0.21	0.26	1.21		
	3	22	0.63	0.17	0.34	0.93		
	Ukupno	83	0.74	0.23	0.26	1.53		
E/A	1	31	0.86	0.26	0.56	1.46	0.895	0.413
	2	30	0.81	0.28	0.44	1.47		
	3	22	0.91	0.30	0.50	1.59		
	Ukupno	83	0.85	0.28	0.44	1.59		
E's (<i>cm/s</i>)	1	31	7.6	1.9	4.3	13	11.952	0.000
	2	30	7.0	1.9	4.3	11		
	3	22	9.6	2.0	6.2	13.8		
	Ukupno	83	7.9	2.2	4.3	13.8		
A's (<i>cm/s</i>)	1	31	10.9	2.8	7	16.6	7.636	0.001
	2	30	12.2	3.1	7	18.8		
	3	22	14.1	2.8	10.2	19.9		
	Ukupno	83	12.2	3.1	7	19.9		
E's/A's	1	31	0.72	0.23	0.46	1.37	3.047	0.053
	2	30	0.60	0.19	0.32	1.22		
	3	22	0.70	0.19	0.44	1.14		
	Ukupno	83	0.67	0.21	0.32	1.37		
E/E's	1	31	9.7	4.5	4.46	22.8	7.962	0.001
	2	30	8.4	3.1	3.62	19.6		
	3	22	5.8	1.9	3.39	11.45		
	Ukupno	83	8.2	3.8	3.39	22.8		
Vp (<i>cm/s</i>)	1	31	42.1	10.6	27	74	6.438	0.003
	2	30	36.9	7.8	21	53		
	3	22	46.3	9.8	29	72		
	Ukupno	83	41.4	10.	21	74		
DIM_{SR} (<i>mm</i>)	1	31	0.86	0.17	0.60	1.28	7.914	0.001
	2	30	0.89	0.17	0.38	1.11		
	3	22	0.72	0.14	0.50	1.10		
	Ukupno	83	0.84	0.17	0.38	1.28		

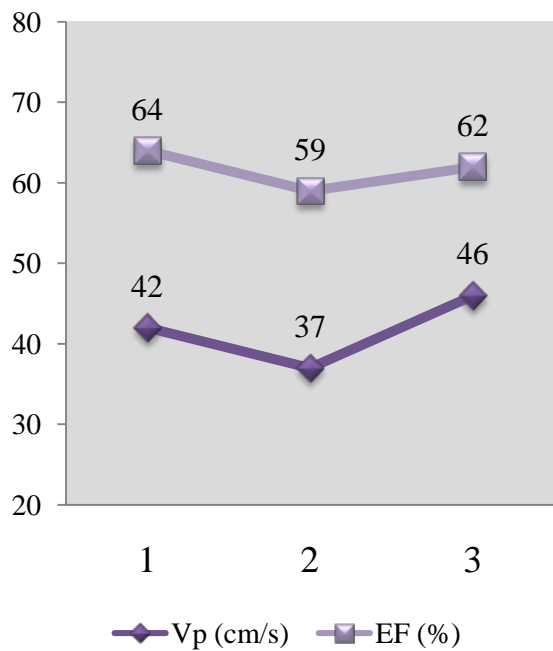
Grafikon 5. Prosečne vrednosti PWTd, IVSTd i RWT u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi (3)



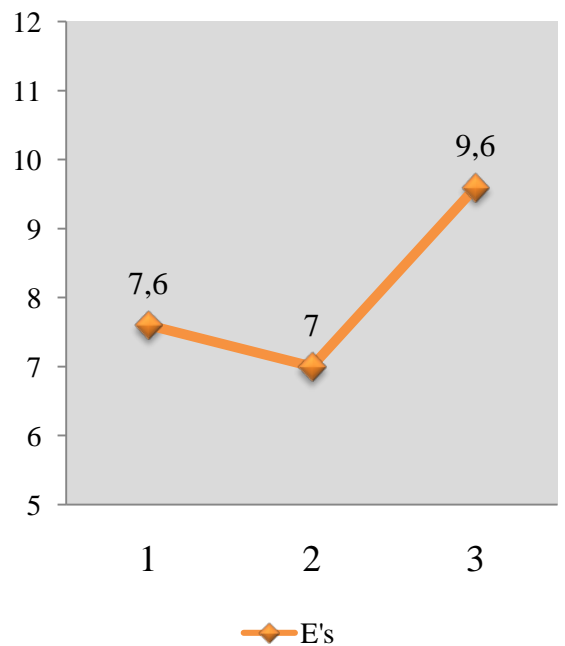
Grafikon 6. Prosečne vrednosti LVmass i LVMI u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi (3)



Grafikon 7. Prosečne vrednosti EF i Vp u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi



Grafikon 8. Prosečne vrednosti E's u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi (3)



Prosečne vrednosti ehokardiografskih parametara kardiovaskularnog statusa u grupi bolesnika sa IV stepenom HBB (1), V stepenom HBB (2) i u kontrolnoj grupi (3), prikazani su u grafikonima 5, 6, 7 i 8.

Iz tabele 19 može se sagledati značajnost razlike u prosečnim vrednostima ehokardiografskih parametara, ali između različitih grupa unutar istog obeležja. Za one ehokardiografske parametre čije su vrednosti pokazale značajan međugrupni varijabilitet, uradili smo Post Hoc analizu koja je pokazala značajnost razlike između grupa 1, 2 i 3. Između grupa 1 i 2 (bolesnici sa IV i V fazom HBB) zabeležene su značajne razlike u vrednostima EF ($p=0.01$), FS ($p<0.05$), talasa E ($p<0.01$) i Vp ($p<0.05$). Između grupa 1 i 3 (bolesnici sa IV fazom HBB i kontrolne grupa) zabeležene su značajne razlike u vrednostima LA ($p<0.05$), PWTd ($p<0.001$), IVSTd ($p<0.01$), RWT ($p<0.01$), LVmass ($p<0.05$), LVMI ($p<0.01$), talasa E ($p<0.01$), talasa A ($p<0.01$), brzine E's ($p<0.001$), brzine A's ($p<0.001$), odnosa E/E's ($p<0.001$) i DIM_{SR} ($p<0.01$). Između grupa 2 i 3 (bolesnici sa V fazom HBB i kontrolne grupa) zabeležene su značajne razlike u vrednostima LA ($p<0.05$), PWTd ($p<0.001$), IVSTd ($p<0.001$), RWT ($p<0.001$), LVmass ($p<0.01$), LVMI ($p<0.001$), brzine E's ($p<0.001$), brzine A's ($p<0.05$), odnosa E/E's ($p<0.01$), Vp ($p<0.001$) i DIM_{SR} ($p<0.001$).

Tabela 19. Statistička značajnost razlike u ispitivanim parametrima između 3 grupe bolesnika

Ehokardiografski parametri	Između grupa	Srednja razlika (I-J)	p
LA (mm)	grupe 1 i 2	-0.02559	0.836
	grupe 1 i 3	0.31320*	0.022
	grupe 2 i 3	0.33879*	0.014
PWTd (mm)	grupe 1 i 2	-0.04774	0.142
	grupe 1 i 3	0.13180*	0.000
	grupe 2 i 3	0.17955*	0.000
IVSTd (mm)	grupe 1 i 2	-0.05583	0.105
	grupe 1 i 3	0.11166*	0.004
	grupe 2 i 3	0.16748*	0.000
RWT	grupe 1 i 2	-0.01932	0.238
	grupe 1 i 3	0.05331*	0.003
	grupe 2 i 3	0.07264*	0.000

LVmass (g)	grupe 1 i 2	-12.04194	0.531
	grupe 1 i 3	53.21261*	0.013
	grupe 2 i 3	65.25455*	0.003
LVMI (g/m²)	grupe 1 i 2	-14.23226	0.207
	grupe 1 i 3	33.24047*	0.008
	grupe 2 i 3	47.47273*	0.000
EF (%)	grupe 1 i 2	5.12688*	0.010
	grupe 1 i 3	2.60264	0.221
	grupe 2 i 3	-2.52424	0.238
FS (%)	grupe 1 i 2	3.53978*	0.013
	grupe 1 i 3	1.80645	0.236
	grupe 2 i 3	-1.73333	0.259
E (m/s)	grupe 1 i 2	0.13572*	0.009
	grupe 1 i 3	0.15521*	0.006
	grupe 2 i 3	0.01948	0.728
A (m/s)	grupe 1 i 2	0.08147	0.158
	grupe 1 i 3	0.19262*	0.003
	grupe 2 i 3	0.11115	0.080
E's (cm/s)	grupe 1 i 2	0.57602	0.254
	grupe 1 i 3	-2.03065*	0.000
	grupe 2 i 3	-2.60667*	0.000
A's (cm/s)	grupe 1 i 2	-1,27376	0.091
	grupe 1 i 3	-3.16437*	0.000
	grupe 2 i 3	-1.89061*	0.023
E/E's	grupe 1 i 2	1.24177	0.167
	grupe 1 i 3	3.83996*	0.000
	grupe 2 i 3	2.59818*	0.009
Vp (cm/s)	grupe 1 i 2	5.15022*	0.036
	grupe 1 i 3	-4.24282	0.111
	grupe 2 i 3	-9.39303*	0.001
DIM_{SR} (mm)	grupe 1 i 2	0.03469	0.406
	grupe 1 i 3	0.13974*	0.003
	grupe 2 i 3	0.17442*	0.000

Na osnovu usvojenih kriterijuma, od 61 bolesnika sa HBB čak 56 (91.8%) je imalo hipertrofiju leve komore i to: 22 bolesnika (36.1%) koncentričnu, a 34 bolesnika (55.7%) ekscentričnu. Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u distribuciji frekvencija između 2 grupe ispitanika u odnosu na prisustvo ili odsustvo LVH ($p < 0.05$), tabela 20.

Tabela 20. Distribucija ispitanika u odnosu na grupu i prisustvo hipertrofije leve komore

Likelihood ratio test			Hipertrofija leve komore		Ukupno
			Da	Ne	
Grupa ispitanika	Bolesnička	N (%)	56 (91.8)	5 (8.2)	61(100)
	Kontrolna	N (%)	15 (68.2)	7 (31.8)	22 (100)
Ukupno		N (%)	71 (85.5)	12 (4.5)	83 (100)
Likelihood ratio: 6.475			p=0.011		

Ukoliko se dalje posmatra distribucija frekvencija izmedju 2 grupe ispitanika u odnosu na LVH definisanu kroz 3 kategorije: odsustvo, koncentrična, ekscentrična, vidi se da razlika i dalje ostaje statistički značajna ($p < 0.05$), tabela 21.

Tabela 21. Distribucija ispitanika u odnosu na grupu i tip hipertrofije leve komore

χ^2 test			Hipertrofija leve komore			Ukupno
			Ne	Koncentrična	Ekscentrična	
Grupa ispitanika	Bolesnička	N (%)	5(8.2)	22 (36.1)	34 (55.7)	61(100)
	Kontrolna	N (%)	7 (31.8)	1 (4.5)	14 (63.6)	22 (100)
Ukupno		N (%)	12 (14.0%)	23 (27.7)	48 (57.8)	83 (100)
$\chi^2=12.211$			p=0.011			

Takodje je utvrđeno postojanje statistički značajne razlike kada se posmatra distribucija frekvencija izmedju grupa 1, 2 i 3 sa različitim nivoom bubrežne funkcije u odnosu na prisustvo ili odsustvo LVH ($p=0.001$), tabela 22.

Tabela 22. Distribucija ispitanika u odnosu na prisustvo hipertrofije leve komore i pripadnost jednoj od 3 grupe prema nivou bubrežne funkcije

Likelihood ratio test			Hipertrofija leve komore		Ukupno
			Da	Ne	
Grupa ispitanika	1 (IV faza HBB)	N (%)	26 (83.9)	5 (16.1)	31 (100)
	2 (V faza HBB)	N (%)	30 (100)	0 (0.0)	30 (100)
	3 (Kontrolna grupa)	N (%)	15 (68.2)	7 (31.8)	22 (100)
Ukupno		N (%)	71 (85.5)	12 (14.5)	83 (100)
Likelihood ratio: 13.676			p=0.001		

Kalcifikacije aortnih zalistaka su bile prisutne kod ukupno 27 (32.5%) ispitanika, pri čemu je učestalost u bolesničkoj grupi (25) u odnosu na učestalost u kontrolnoj grupi (2)

bila statistički značajno viša ($p < 0.01$), tabela 23. Ukoliko se posmatra distribucija frekvencija u odnosu na prisustvo aortalnih kalcifikacija kod grupa 1, 2 i 3 (IV faza HBB, V faza HBB, kontrolna grupa), razlika je i dalje statistički značajna ($p < 0.05$), tabela 24. Kalcifikacije mitralnih zalistaka su bile prisutne kod ukupno 19 (31.1%) ispitanika koji su pripadali isključivo bolesničkoj grupi, tako da je prikazana distribucija među grupama takodje bila statistički značajno različita ($p < 0.01$), tabela 23. Ukoliko se posmatra distribucija frekvencija u odnosu na prisustvo mitralnih kalcifikacija kod 3 različite grupe prema nivou bubrežne funkcije, razlika i dalje ostaje statistički značajna ($p < 0.01$), tabela 24.

Tabela 23. Distribucija ispitanika u odnosu na grupu i prisustvo valvularnih kalcifikacija

χ^2 test			Grupe		Ukupno
			Bolesnička	Kontrolna	
Kalcifikacije aortalnih zalistaka	Da	N (%)	25 (41)	2 (9.1)	27 (32.5)
	Ne	N (%)	36 (59)	20 (90.9)	56 (67.5)
Ukupno		N (%)	61 (100)	22 (100)	83 (100)
$\chi^2=7.493$			p=0.006		
Kalcifikacije mitralnih zalistaka	Da	N (%)	19 (31.1)	0 (0)	19 (100)
	Ne	N (%)	42 (68.9)	22 (100)	64 (100)
Ukupno		N (%)	61 (100)	22 (100)	83 (100)
$\chi^2=8.887$			p=0.003		

Tabela 24. Distribucija ispitanika u odnosu na grupu i prisustvo valvularnih kalcifikacija

χ^2 test			Grupe			Ukupno
			1	2	3	
Kalcifikacije aortalnih zalistaka	Da	N (%)	11(35.5)	14 (46.7)	2 (9.1)	27 (32.5)
	Ne	N (%)	20 (64.5)	16 (53.3)	20 (90.9)	56 (67.5)
Ukupno		N (%)	31	30	22	83 (100)
$\chi^2=8.362$			p=0.015			
Kalcifikacije mitralnih zalistaka	Da	N (%)	8 (25.8)	11(36.7)	0 (0)	19 (22.9)
	Ne	N (%)	23 (74.2)	19 (63.3)	22 (100)	64 (77.1)
Ukupno		N (%)	31(100)	30 (100)	22 (100)	83 (100)
$\chi^2=9.905$			p=0.007			

Prilikom ehosonografskog pregleda karotidnih arterija, izuzev merenja debljine intimomedijalnog kompleksa, tragali smo i za prisustvom plakova i kalcifikacija, a potom smo analizirali rasprostranjenost kalcifikacija (odsustvo, unilateralne, bilateralne). Iz tabele 25 može se videti da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji frekvencija između 2 grupe ispitanika u odnosu na prisustvo plakova u levoj i desnoj karotidnoj arteriji ($p > 0.05$). Međutim, razlika u distribuciji frekvencija između 2 grupe u odnosu na prisustvo kalcifikovanih plakova u levoj karotidnoj arteriji jeste bila statistički značajna, i to sa većom učestalošću u bolesničkoj (50.8%), nego u kontrolnoj (22.7%) grupi ($p < 0.05$). Na isti način, potvrđena je statistički značajna razlika između 2 grupe i u odnosu na prisustvo kalcifikovanih plakova u desnoj karotidnoj arteriji (54.1% vs. 27.3%; $p < 0.05$). Osim toga, samo prisustvo kalcifikovanih plakova u obe karotidne arterije značajno se razlikovalo između bolesničke i kontrolne grupe ($p < 0.01$), kao i njihova rasprostranjenost ($p < 0.05$), tabela 26.

Tabela 25. Distribucija ispitanika u odnosu na grupu i prisustvo plakova (nekalifikovanih i kalcifikovanih) u karotidnim arterijama

Likelihood ratio i χ^2 test		Grupe		Ukupno
		Bolesnička	Kontrolna	
Plakovi u levoj karotidnoj arteriji	Da N (%)	51 (83.6)	18 (81.8)	69 (83.1)
	Ne N (%)	10 (16.4)	4 (18.2)	14 (16.9)
Ukupno N (%)		61 (100)	22 (100)	83 (100)
Likelihood ratio: 0.036		p = 0.849		
Plakovi u desnoj karotidnoj arteriji	Da N (%)	57 (93.4)	20 (90.9)	77 (92.8)
	Ne N (%)	4 (6.6)	2 (9.1)	6 (7.2)
Ukupno N (%)		61 (100)	22 (100)	83 (100)
Likelihood ratio: 0.148		p = 0.700		
Kalcifikovani plakovi u u levoj karotidnoj arteriji	Da N (%)	31 (50.8)	5 (22.7)	36 (43.4)
	Ne N (%)	30 (49.2)	17 (77.3)	47 (56.6)
Ukupno N (%)		61 (100)	22 (100)	83 (100)
$\chi^2=5.195$		p = 0.023		
Kalcifikovani plakovi u u desnoj karotidnoj arteriji	Da N (%)	33 (54.1)	6 (27.3)	39 (47)
	Ne N (%)	28 (45.9)	16 (72.7)	44 (53)
Ukupno N (%)		61 (100)	22 (100)	83 (100)
$\chi^2=4.671$		p=0.031		
Kalcifikovani plakovi u obe karotidne arterije	Da N (%)	37 (60.7)	6 (27.3)	43 (51.8)
	Ne N (%)	24 (39.3)	16 (72.7)	40 (48.2)
Ukupno N (%)		61 (100)	22 (100)	83 (100)
$\chi^2=7.217$		p=0.007		

Tabela 26. Distribucija ispitanika u odnosu na grupu i rasprostranjenost kalcifikacija u karotidnim arterijama

χ^2 test		Rasprostranjenost kalcifikacija			Ukupno
		Obostrano	Jednostrano	Nema	
Grupa ispitanika	Bolesnička N (%)	27 (44.3)	10 (16.4)	24 (39.3)	61 (100)
	Kontrolna N (%)	5 (22.7)	1 (4.5)	16 (72.7)	22 (100)
Ukupno N (%)		32 (38.6)	11 (13.3)	40 (48.2)	83 (100)
$\chi^2=7.396$					p=0.025

Dalje, ukoliko se posmatra distribucija frekvencija u odnosu na prisustvo kalcifikacija i pripadnost jednoj od 3 grupe ispitanika (bolesnici sa IV fazom HBB, bolesnici sa V fazom HBB i kontrolna grupa), vidi se da razlika i dalje ostaje statistički značajna ($p<0.05$), tabela 27.

Tabela 27. Distribucija ispitanika u odnosu na prisustvo kalcifikovanih plakova i pripadnost jednoj od 3 grupe prema nivou bubrežne funkcije

χ^2 test		Vaskularne kalcifikacije		Ukupno
		Da	Ne	
Grupa ispitanika	1 (IV faza HBB) N (%)	18 (58.1)	13 (41.9)	31 (100)
	2 (V faza HBB) N (%)	19 (63.3)	11 (36.7)	30 (100)
	3 (Kontrolna grupa) N (%)	6 (27.3)	16 (72.7)	22 (100)
Ukupno N (%)		43 (51.8)	40 (48.2)	83 (100)
$\chi^2=7.386$				p=0.025

4.2.2. KARDIJALNI BIOMARKERI

U tabeli broj 28 prikazani su osnovni statistički pokazatelji kardijalnih biomarkera i značajnost razlike između njihovih prosečnih vrednosti u 2 grupe ispitanika. Iz tabele se može videti da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima hsCRP-a ($p<0.05$), BNP-a ($p<0.01$), NT-proBNP-a ($p<0.001$), TnT ($p<0.001$) i TnI ($p<0.01$) između bolesničke i kontrolne grupe.

Tabela 28. Značajnost razlike u prosečnim vrednostima kardijalnih biomarkera izmedju bolesničke i kontrolne grupe

Varijable	Bolesnička grupa (Xsr±SD)	Kontrolna grupa (Xsr±SD)	p
hsCRP (mg/l)	10.3±18.2	2.1±1.6	0.045
BNP (pg/ml)	225.7±299.5	86.3±59.5	0.003
TnI (ng/ml)	0.013±0.023	0.004±0.006	0.007
NT-proBNP (pg/ml)	1193.9±1004.9	169.5±155.5	0.000
TnT (ng/ml)	0.035±0.060	0.000±0.000	0.000

Primenom jednofaktorske analize varijanse, utvrdili smo da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima kardijalnih biomarkera izmedju bolesnika sa IV i V stepenom HBB i zdravih osoba (grupe 1, 2 i 3) za NT-proBNP ($p < 0.001$) i TnT ($p < 0.01$), što se može videti iz tabele 29.

Tabela 29. Statistička značajnost razlike u prosečnim vrednostima kardijalnih biomarkera izmedju bolesnika sa različitim stepenom HBB i kontrolne grupe

Biomarkeri	Grupa	N	Xsr	SD	Min	Max	F	p
hsCRP (mg/l)	1	30	11.79	18.03	0.20	65.00	2.454	0.093
	2	29	8.80	18.58	0.40	87.54		
	3	22	2.13	1.61	0.38	6.35		
	Ukupno	81	8.10	15.95	0.20	87.54		
BNP (pg/ml)	1	30	216.5	295.0	12.5	1403.8	0.343	0.103
	2	27	236.0	309.6	45.0	1605.0		
	3	22	86.3	59.5	14.3	186.0		
	Ukupno	79	186.9	263.2	12.5	1605.0		
TnI (ng/ml)	1	31	0.010	0.015	0.00	0.06	2.039	0.137
	2	30	0.015	0.029	0.00	0.15		
	3	22	0.004	0.007	0.00	0.02		
	Ukupno	83	0.010	0.020	0.00	0.15		
NT-proBNP (pg/ml)	1	31	1016.8	957.6	63	3000	12.819	0.000
	2	30	1377.0	1035.6	115	3000		
	3	22	169.5	155.5	60	707		
	Ukupno	83	922.4	975.7	60	3000		
TnT (ng/ml)	1	31	0.025	0.049	0.00	0.17	5.083	0.008
	2	30	0.046	0.069	0.00	0.28		
	3	22	0.000	0.000	0.00	0.00		
	Ukupno	83	0.026	0.053	0.00	0.28		

Posle jednofaktorske analize varijanse kojom je nadjen značajan medjugrupni varijabilitet u vrednostima NT-proBNP-a i TnT, uradili smo Post Hoc analizu koja je pokazala značajnost razlike unutar istoga obeležja izmedju grupa 1, 2 i 3 (tabela 30). Izmedju grupa 1 i 2 (bolesnici sa IV i V fazom HBB) nisu zabeležene statistički značajne razlike u vrednostima kardijalnih biomarkera. Izmedju grupa 1 i 3 (bolesnici sa IV fazom HBB i kontrolne grupa) zabeležene su značajne razlike u vrednostima hsCRP ($p < 0.05$) i NT-proBNP-a ($p = 0.001$). Izmedju grupa 2 i 3 (bolesnici sa V fazom HBB i kontrolne grupa) zabeležene su značajne razlike u vrednostima većine kardijalnih biomarkera: BNP-a ($p < 0.05$), TnI ($p < 0.05$), NT-proBNP-a ($p < 0.001$) i TnT ($p < 0.01$).

Tabela 30. Statistička značajnost razlike u kardijalnim biomarkerima izmedju 3 grupe bolesnika

Kardijalni biomarkeri	Izmedju grupa	Srednja razlika (I-J)	p
hsCRP (mg/l)	grupe 1 i 2	2.98884	0.466
	grupe 1 i 3	9.65548*	0.031
	grupe 2 i 3	6.66665	0.136
BNP (pg/ml)	grupe 1 i 2	-19.57289	0.776
	grupe 1 i 3	130.13312	0.077
	grupe 2 i 3	149.70601*	0.048
TnI (ng/ml)	grupe 1 i 2	-0.00468	0.365
	grupe 1 i 3	0.00669	0.235
	grupe 2 i 3	0.01136*	0.047
NT-proBNP (pg/ml)	grupe 1 i 2	-360.24624	0.106
	grupe 1 i 3	847.24164*	0.001
	grupe 2 i 3	1207.48788*	0.000
TnT (ng/ml)	grupe 1 i 2	-0.02051	0.121
	grupe 1 i 3	0.02516	0.081
	grupe 2 i 3	0.04567*	0.002

4.3. POVEZANOST KARDIJALNIH BIOMARKERA SA KLINIČKIM, LABORATORIJSKIM I EHOSONOGRAFSKIM PARAMETRIMA

Za testiranje linearne povezanosti između kliničkih, laboratorijskih i ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa i nivoa pojedinih kardijalnih biomarkera kod naših ispitanika, korišćen je Pearson-ov koeficijent korelacije. Od kliničkih karakteristika, ispitivana je povezanost biomarkera sa starošću, polom, TT, TV, BMI, pušačkim stažom i brojem popušenih cigareta, SKP, DKP i SAP. Od laboratorijskih parametara, testirani su: Hb, Hct, Le, SE, fibrinogen, kreatinin, ureja, ac. uricum, proteini, albumini, holesterol, HDL, LDL i VLDL holesterol, trigliceridi, Ca, P, proizvod CaxP, alkalna fosfataza, PTH, serumsko Fe, zasićenje transferina, proteinurija i klirens kreatinina izračunat na 2 način: pomoću Cockcroft-Gault-ove i MDRD formule. Od ehokardiografskih parametara, testirani su strukturni parametri: LA, PWT, IVST, LVEDD, LVESD, RWT, LVmass i LVMI, kao i funkcionalni parametri dobijeni putem standardnog pregleda i TDI: IVRT, LVET, MPI, EF, FS, V's, V'l, E, A, E/A, DT, IVRT, E's, A's, E's/A's, E'l, A'l, E'l/A'l, E'a, A'a, E'a/A'a, E/Es', E/El', E/Ea' i Vp. Od ehosonografskih parametara dobijenih pregledom karotidnih arterija, ispitivana je povezanost kardijalnih biomarkera sa izmerenim debljinama intimo-medijalnog kompleksa: DIM_L, DIM_D i njihovom srednjom vrednošću DIM_{SR}.

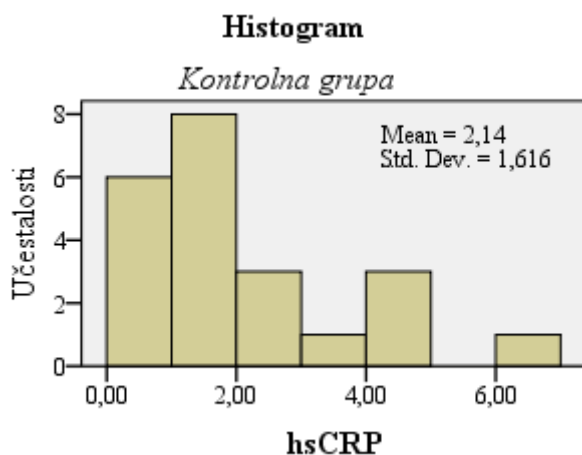
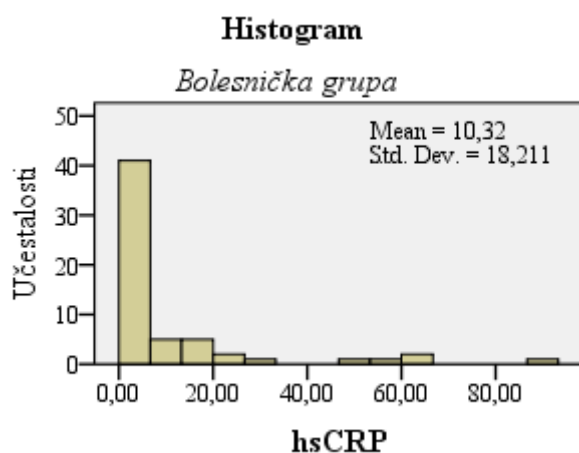
Za ispitivanje prediktivne vrednosti svih kliničkih, laboratorijskih i ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa koji su se pokazali značajnim u univarijantnim modelima za nivo kardijalnih biomarkera, koristili smo model *backward* višestruke linearne regresije.

4.3.1. VISOKOSENZITIVNI C-REAKTIVNI PROTEIN

Statističkom analizom utvrđeno je da distribucija vrednosti hsCRP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi odstupa od normalne raspodele, što je potvrđeno testom Kolmogorov Smirnov, testom Shapiro Wilk i analizom Skewness-Curtosis vrednosti.

Tabela 31. Rezultati ispitivanja normalnosti distribucije hsCRP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk
Bolesnička grupa	p<0.001	p<0.001
Kontrolna grupa	p=0.012	p=0.010



Grafikoni 9 i 10. Histogrami distribucija frekvencija hsCRP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

Posle logaritamske transformacije hsCRP-a u lnhsCRP postignuta je normalnost raspodele, tabela 32. Aritmetičke sredine i intervali poverenja transformisanih vrednosti

hsCRP-a iznose: u bolesničkoj grupi $X_{sr} = 1.24$, 95%CI: 0.86-1.62, u kontrolnoj grupi $X_{sr} = 0.48$, 95%CI: 0.13-0.83.

Tabela 32. Rezultati ispitivanja normalnosti distribucije lnhsCRP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk
Bolesnička grupa	p=0.075	p=0.150
Kontrolna grupa	p=0.200	p=0.633

4.3.1.1. Bolesnička grupa

Nakon logaritmovanja vrednosti hsCRP-a, utvrđeno je da postoji statistički visoko značajna pozitivna korelacija lnhsCRP-a sa brojem leukocita ($r = 0.339$; $p = 0.009$), brzinom sedimentacije eritrocita ($r = 0.412$; $p = 0.001$) i nivoom fibrinogena ($r = 0.428$; $p = 0.001$), a negativna sa nivoom serumskog Fe ($r = -0.438$; $p = 0.001$) i zasićenja transferina ($r = -0.388$; $p = 0.002$), dok je od ehosonografskih parametara jedino utvrđena slaba pozitivna korelacija sa debljinom intime-medije desne karotidne arterije ($r = 0.266$; $p = 0.042$).

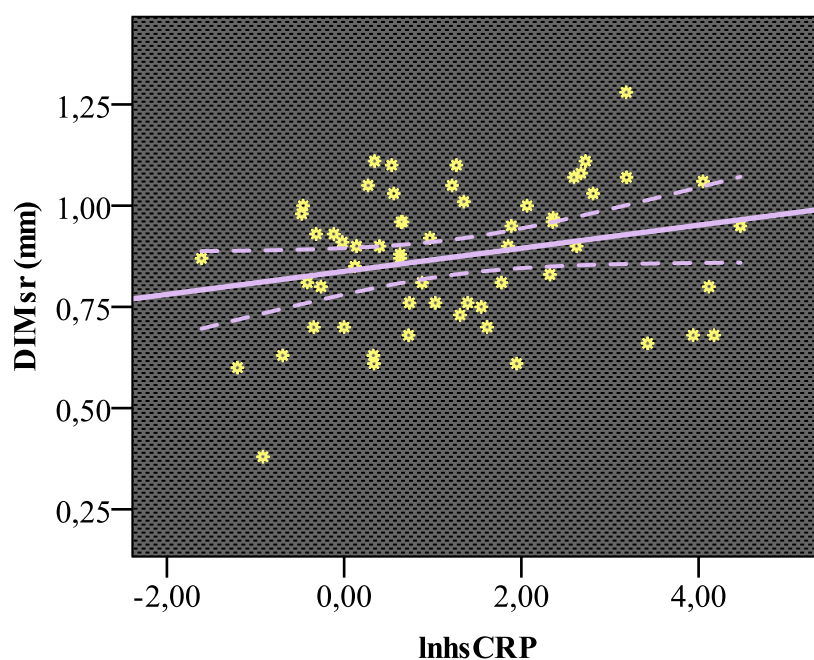
Za ispitivanje prediktivnog značaja svih onih parametara koji su se pokazali značajnim u univarijantnom modelu za logaritmovane vrednosti hsCRP-a, koristili smo model *backward* višestruke linearne regresije. Kao statistički značajni regresori u ovom modelu, izdvojili su se zasićenje transferina (TSAT), debljina intime medije karotidnih arterija (DIMsr), brzina sedimentacije eritrocita (SE) i broj leukocita (Le). Koeficijent determinacije regresionog modela (R^2) iznosio je 0.508, što znači da je oko 51 % varijabiliteta ishodne varijable lnhsCRP objašnjeno varijabilitetom 4 regresora iz regresionog modela prikazanog u tabeli 33. Iz tabele vidimo da povećanje vrednosti DIMsr za 1 uzrokuje promenu vrednosti lnCRP-a za 2.877 u istom smeru, da je povećanje TSAT za 1 povezano sa promenom lnhsCRP za 4.726 u suprotnom smeru, da povećanje SE za 1 izaziva promenu lnhsCRP-a za 0.019 u istom smeru i da povećanje Le za 1 izaziva promenu lnhsCRP-a za 0.179 takodje u istom smeru.

Linearna povezanost izmedju lnhsCRP-a kao zavisne i DIMsr kao nezavisne varijable grafički je prikazana u grafikonu 11.

Tabela 33. Regresioni model lnhsCRP

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	-3.265	1.058		-3.085	0.003
Le	0.179	0.073	0.244	2.450	0.018
SE	0.019	0.007	0.283	2.752	0.008
Fibrinogen	0.239	0.125	0.203	1.914	0.061
TSAT	-4.726	1.346	-0.361	-3.512	0.001
DIMsr	2.877	0.848	0.335	3.393	0.001

Zavisna varijabla: lnhsCRP



Grafikon 11. Povezanost izmedju DIMsr i lnhsCRP u grupi bolesnika sa HBB

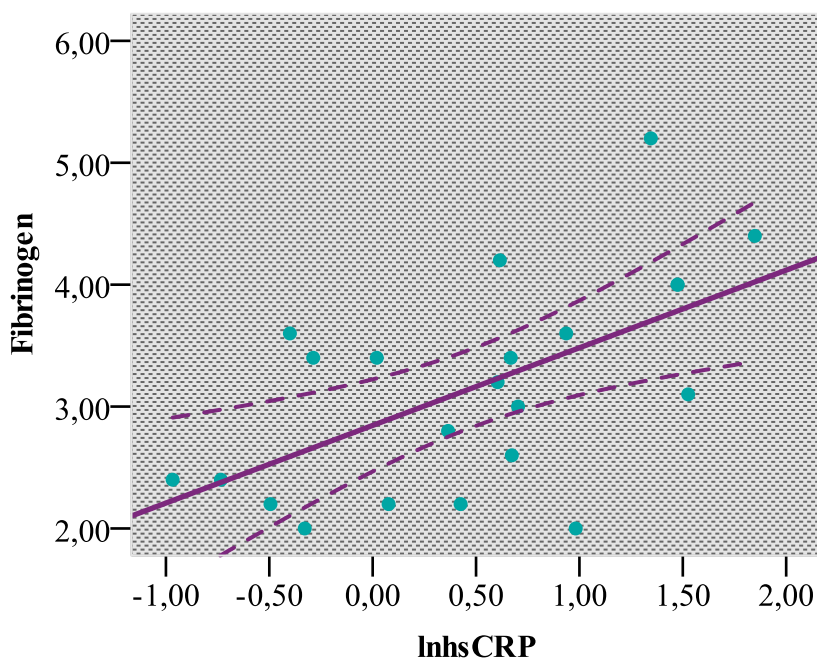
4.3.1.2. Kontrolna grupa

U kontrolnoj grupi, nakon logaritmovanja vrednosti hsCRP-a utvrđeno je da postoji visoko statistički značajna pozitivna korelacija sa nivoom fibrinogena ($r = 0.582$; $p = 0.004$), kao i statistički značajna pozitivna korelacija sa sledećim ehokardiografskim parametrima: LVESD ($r = 0.480$; $p = 0.024$), LVmass ($r = 0.520$; $p = 0.013$) i LVMI ($r = 0.483$; $p = 0.023$). Takodje je potvrđena statistički visoko značajna negativna korelacija sa vrednostima E'l ($r = -0.564$; $p = 0.006$).

Tabela 34. Regresioni model lnhsCRP

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	0.793	0.930		0.853	0.404
Fibrinogen	0.413	0.155	0.452	2.659	0.016
E'l	-0.140	0.056	-0.426	-2.505	0.021

Zavisna varijabla: lnhsCRP



Grafikon 12. Povezanost izmedju fibrinogena i lnhsCRP-a u kontrolnoj grupi

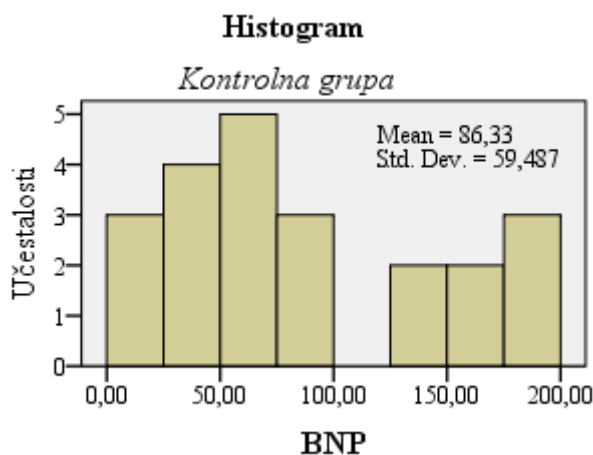
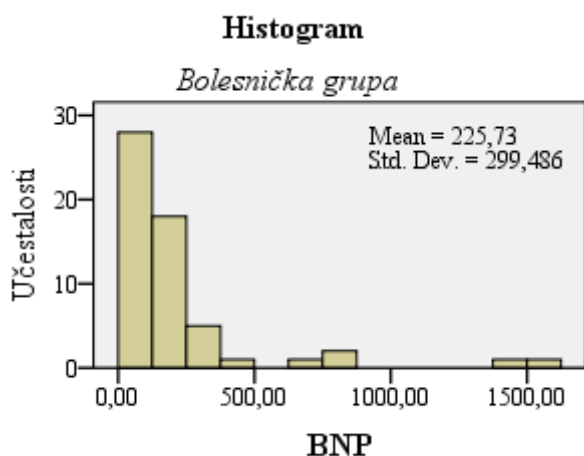
Za ispitivanje prediktivnog značaja ovih parametara koji su se pokazali značajnim u univarijantnom modelu za logaritmovane vrednosti hsCRP-a, koristili smo model *backward* višestruke linearne regresije. Kao statistički značajni regresori u ovom modelu, izdvojili su se nivo fibrinogena i brzina lateralnog dela mitralnog anulusa u ranoj fazi dijastole (E'l). Koeficijent determinacije regresionog modela (R^2) iznosio je 0.503, što znači da je oko 50% varijabiliteta ishodne varijable lnhsCRP objašnjeno varijabilitetom ova 2 regresora prema regresionom modelu prikazanom u tabeli 34. Iz tabele vidimo da povećanje vrednosti E'l za 1 uzrokuje promenu vrednosti lnCRP-a za 0.140 u suprotnom smeru, dok je povećanje fibrinogena za 1 povezano sa promenom lnhsCRP za 0.413 u istom smeru. Linearna povezanost izmedju lnhsCRP-a kao zavisne i fibrinogena kao nezavisne varijable grafički je prikazana u grafikonu 12.

4.3.2. B TIP NATRIURETSKOG PEPTIDA

Provera normalnosti distribucije BNP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi izvršena je testom Kolmogorov Smirnov, testom Shapiro Wilk i analizom Skewness-Curtosis vrednosti. Kalmogorov Smirnov test je pokazao odstupanje koncentracija BNP-a od normalne raspodele i desnu iskošenost samo u bolesničkoj grupi ($p = 0.000$), ali s obzirom da je test Shapiro-Wilk pouzdaniji za manje uzorke, mi smo prihvatili rezultat tog testa u kontrolnoj grupi ($n = 22$), pa smo izvršili logaritamsku transformaciju vrednosti BNP u obe grupe ispitanika, čime smo dobili normalnu raspodelu (tabela 35). Aritmetičke sredine i intervali poverenja transformisanih vrednosti lnBNP-a iznose: u bolesničkoj grupi $X_{sr} = 4.93$, 95%CI 4.68-5.18, u kontrolnoj grupi $X_{sr} = 4.18$, 95%CI 3.82-4.54. Na grafikonima 13 i 14, dati su histogrami frekvencija originalnih vrednosti BNP-a dobijenih istraživanjem u bolesničkoj i kontrolnoj grupi.

Tabela 35. Rezultati ispitivanja normalnosti distribucije BNP-a i lnBNP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

	Kolmogorov Smirnov		Shapiro Wilk	
	BNP	lnBNP	BNP	lnBNP
Bolesnička grupa	$p < 0.001$	$p = 0.200$	$p < 0.001$	$p = 0.270$
Kontrolna grupa	$p = 0.200$	$p = 0.200$	$p = 0.020$	$p = 0.163$



Grafikoni 13 i 14. Histogrami distribucija frekvencija BNP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

4.3.2.1. Bolesnička grupa

Logaritamskom transformacijom serumskih koncentracija BNP-a u bolesničkoj grupi, dobijena je statistički visoko značajna korelacija lnBNP-a sa godinama starosti ($r = 0.395$; $p = 0.002$) i sa body mass index-om (BMI: $r = -0.366$; $p = 0.005$), a značajna negativna korelacija je postojala i sa telesnom težinom (TT: $r = -0.306$; $p = 0.021$). Takodje, statistički značajna korelacija je registrovana izmedju lnBNP-a i sledećih laboratorijskih parametara: hemoglobina (Hb: $r = -0.387$; $p = 0.003$), hematokrita (Hct: $r = -0.397$; $p = 0.000$), HDL holesterola ($r = 0.303$; $p = 0.022$), proteinurije ($r = 0.347$; $p = 0.008$) i klirensa kreatinina izračunatog pomoću Cockcroft- Gault-ove formule (CCr:

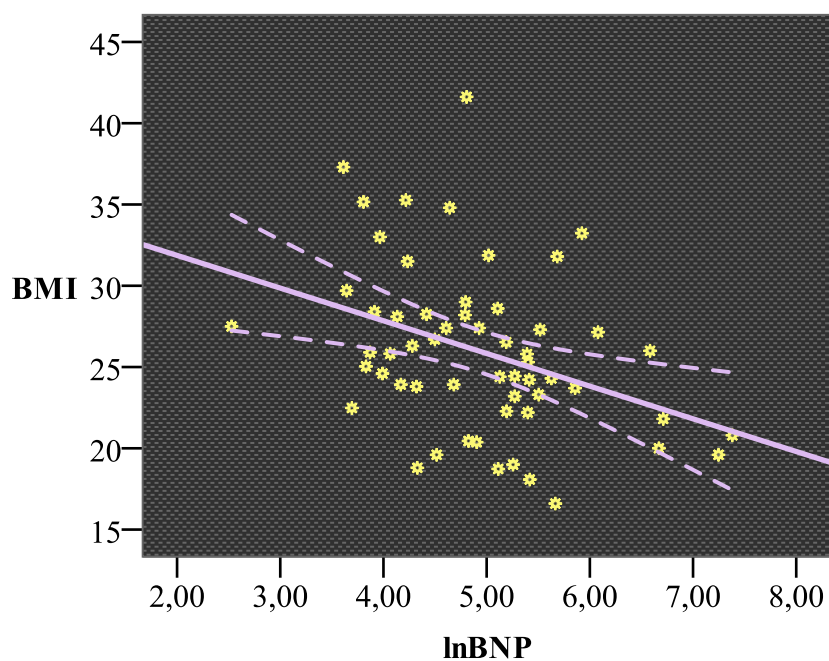
$r = -0.280$; $p = 0.035$). Utvrđeno je da postoji statistički značajna korelacija između BNP-a i nekih parametara dobijenih standardnim ehokardiografskim pregledom, kao što su LA ($r = 0.375$; $p = 0.004$), LVMI ($r = 0.316$; $p = 0.017$), ali i maksimalna brzina rane faze komorskog punjenja (E: $r = 0.307$; $p = 0.002$) i kasne faze komorskog punjenja (A: $r = 0.314$; $p = 0.017$). Takođe se pokazalo da postoji statistički značajna korelacija između BNP-a i sledećih ehokardiografskih parametara dobijenih tkivnim Doppler-om: brzina V'l ($r = -0.337$; $p = 0.010$), E's ($r = -0.329$; $p = 0.012$), A's ($r = -0.361$; $p = 0.006$), E'l ($r = -0.314$; $p = 0.017$), A'l ($r = -0.261$; $p = 0.05$), i odnosa E/E's ($r = 0.524$; $p = 0.000$), E/E'l ($r = 0.504$; $p = 0.000$) i E/E'a ($r = 0.527$; $p = 0.000$).

Za ispitivanje prediktivne vrednosti ovih parametara koji su se pokazali značajnim u univarijantnom modelu za nivo lnBNP-a ($p < 0.05$), koristili smo *backward* model višestruke linearne regresije. Kao statistički značajni regresori u ovom modelu, izdvojili su se parametri tkivnog Doppler-a A's i E/E'a, dok strukturni ehokardiografski parametri nisu pokazali statističku značajnost, a od kliničkih parametara bile su značajne godine starosti, BMI i proteinurija. Koeficijent determinacije regresionog modela (R^2) iznosio je 0.632, što znači da je oko 63 % varijabiliteta ishodne varijable lnBNP objašnjeno varijabilitetom regresora iz regresionog modela prikazanog u tabeli 36. Iz tabele vidimo da povećanje godina starosti za 1 uzrokuje promenu nivoa lnBNP za 0.021 u istom smeru, dok povećanje BMI za 1 uzrokuje promenu nivoa lnBNP za 0.108 u suprotnom smeru. Porast protenurije za 1 izaziva porast lnBNP-a za 0.203. Od ehokardiografskih parametara, pad A's za 1 povezan je sa porastom lnBNP-a za 0.107, dok je porast odnosa E/ E'a za 1 takodje praćen porastom lnBNP-a za 0.076. Linearna povezanost između lnBNP-a kao zavisne i BMI kao nezavisne varijable grafički je prikazana u grafikonu 15.

Tabela 36. Regresioni model lnBNP-a u bolesničkoj grupi

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	5.297	1.418		3.735	0.001
Godine starosti	0.021	0.010	0.290	2.047	0.047
TT	0.022	0.012	0.428	1.901	0.064
BMI	-0.108	0.037	-0.591	-2.940	0.005
Hb	-0.012	0.007	-0.204	-1.701	0.097
Proteinurija	0.203	0.087	0.267	2.325	0.025
LA	0.486	0.265	0.245	1.833	0.074
LVMI	-0.005	0.003	-0.251	-1.730	0.091
A's	-0.107	0.036	-0.333	-2.984	0.005
E/E'a	0.076	0.035	0.261	2.170	0.036

Zavisna varijabla: lnBNP



Grafikon 15. Povezanost BMI i lnBNP u grupi bolesnika sa HBB

4.3.2.2. Kontrolna grupa

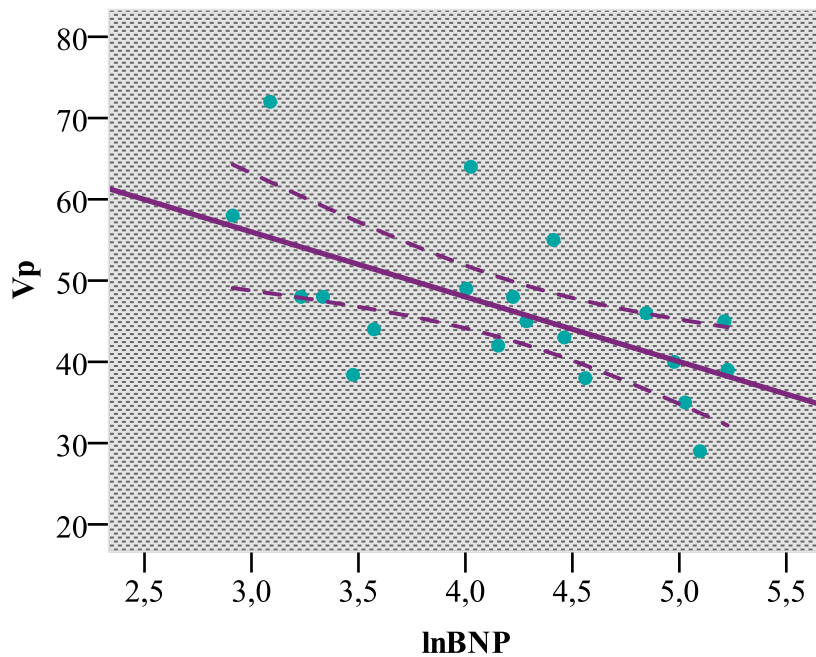
U kontrolnoj grupi, zabeležena je značajna korelacija vrednosti lnBNP-a i sledećih strukturnih ehokardiografskih parametara: LVEDD ($r = 0.534$; $p = 0.013$), LVESD ($r = 0.517$; $p = 0.016$), LVmass ($r = 0.506$; $p = 0.019$) i LVMI ($r = 0.454$; $p = 0.039$). Slaba, ali značajna negativna korelacija takodje je zabeležena izmedju lnBNP-a i parametra dijastolne funkcije LK, E' ($r = -0.501$; $p = 0.021$). Statistički visoko značajna negativna korelacija je utvrđena izmedju lnBNP-a i Vp ($r = -0.611$; $p = 0.003$), a slaba, ali značajna pozitivna korelacija izmedju BNP-a i DIM_D ($r = 0.457$; $p = 0.037$).

Sve varijable koje su pokazale značajnost na nivou 0.05 u univarijantnom modelu, ubačene su u *backward* model višestruke linearne regresije. Kao statistički značajni regresori u ovom modelu, izdvojili su se enddijastolni dijametar leve komore (LVEDD) i brzina propagacije mitralnog protoka dobijena iz color M mod Doppler-a (Vp). Koeficijent determinacije regresionog modela (R^2) iznosio je 0.514, što znači da je oko 51% varijabiliteta ishodne varijable lnBNP objašnjeno variranjem ova 2 regresora iz regresionog modela prikazanog u tabeli 37. Iz tabele vidimo da povećanje vrednosti LVEDD za 1 uzrokuje promenu nivoa lnBNP za 0.624 u istom smeru, dok porast Vp za 1 uzrokuje promenu nivoa lnBNP za 0.038 u suprotnom smeru. Linearna povezanost izmedju BNP-a kao zavisne i Vp kao nezavisne varijable grafički je prikazana u grafikonu 16.

Tabela 37. Regresioni model lnBNP u kontrolnoj grupi

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	2.843	1.670		1.702	0.106
LVEDD	0.624	0.273	0.391	2.282	0.035
Vp	-0.038	0.013	-0.499	-2.913	0.009

Zavisna varijabla: lnBNP



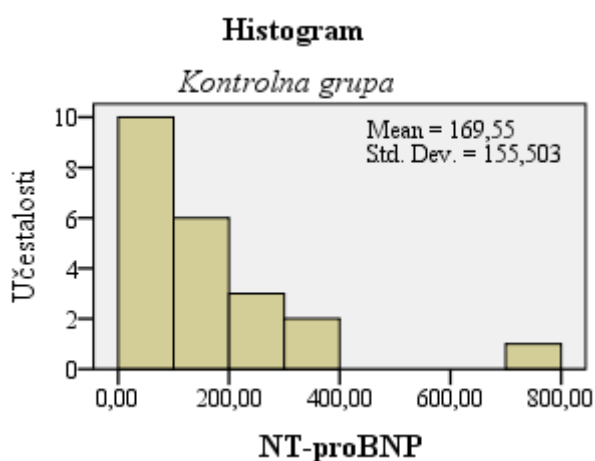
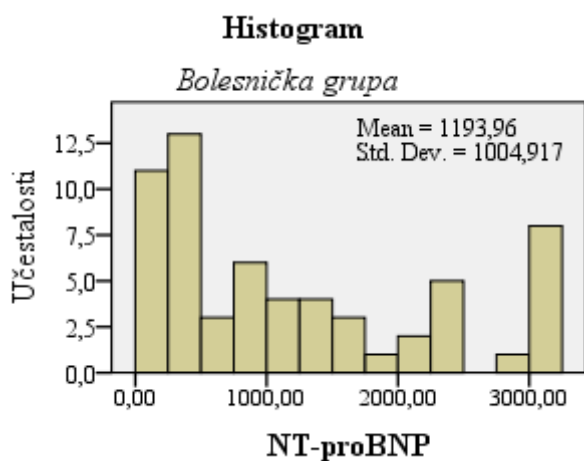
Grafikon 16. Povezanost izmedju LVM i BNP-a u kontrolnoj grupi

4.3.3. N-TERMINALNI FRAGMENT PRO-BNP-a

Vrednosti NT-proBNP-a nisu pokazivale normalnu distribuciju ni u bolesničkoj, ni u kontrolnoj grupi, što je provereno statističkim testovima Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk i grafičkim metodama (histogramima), i potvrđeno merama asimetrije i zaravnjenosti (Skewnes, Curtosis). Oba statistička testa su pokazala odstupanje koncentracija NT-proBNP-a od normalne raspodele i u jednoj i u drugoj grupi ispitanika, pa je izvršena logaritamska transformacija čime je u bolesničkoj grupi prema rezultatima testova dobijena normalna raspodela vrednosti lnNTproBNP-a (tabela 38). U kontrolnoj grupi, test Shapiro-Wilk je pokazao $p < 0.05$ za vrednosti lnNT-proBNP-a, ali je koeficijent varijacije bio 14.8% (<30%), pa se takodje može smatrati da je logaritamskom transformacijom dobijena normalna raspodela. Aritmetičke sredine i intervali poverenja transformisanih vrednosti NT-proBNP-a iznose: u bolesničkoj grupi $X_{sr} = 6.61$, 95%CI: 6.33-6.89, u kontrolnoj grupi $X_{sr} = 4.85$, 95%CI: 4.53-5.17. U grafikonima 17 i 18, dati su histogrami frekvencija originalnih vrednosti NT-proBNP-a dobijenih istraživanjem u bolesničkoj i kontrolnoj grupi.

Tabela 38. Rezultati ispitivanja normalnosti distribucije BNP-a i lnBNP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

	Kolmogorov Smirnov		Shapiro Wilk	
	NT-proBNP	lnNT-proBNP	NT-proBNP	lnNT-proBNP
Bolesnička grupa	p<0.001	p=0.199	p<0.001	p=0.003
Kontrolna grupa	p=0.002	p=0.200	p<0.001	p=0.030



Grafikoni 17 i 18. Histogrami distribucija frekvencija NT-proBNP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi

4.3.3.1. Bolesnička grupa

Nakon logaritmovanja vrednosti NT-proBNP-a, utvrđeno je da postoji visoko statistički značajna korelacija između lnNT-proBNP-a i godina starosti bolesnika ($r = 0.425$; $p = 0.001$). Takođe, postojala je statistički značajna negativna korelacija između lnNT-proBNP-a i nivoa hemoglobina ($r = -0.496$; $p = 0.000$), hematokrita ($r = -0.491$; $p = 0.000$), holesterola ($r = -0.318$; $p = 0.012$), LDL holesterola ($r = -0.344$; $p = 0.007$) i klirensa kreatinina izračunatog preko Cockroft- Gault-ove ($r = -0.383$; $p = 0.002$) i MDRD formule ($r = -0.270$; $p = 0.035$), a pozitivna korelacija između lnNT-proBNP-a i nivoa serumskog kreatinina ($r = 0.316$; $p = 0.013$). Pronadjena je slaba korelacija lnNT-proBNP-a sa standardnim ehokardiografskim parametrima: pozitivna sa strukturnim parametrima LA ($r = 0.302$; $p = 0.018$) i LVMI ($r = 0.306$; $p = 0.016$), a negativna sa funkcionalnim parametrima EF ($r = -0.286$; $p = 0.025$) i FS ($r = -0.271$; $p = 0.034$). Od ostalih ehokardiografskih parametara, indeksi punjenja leve komore su statistički značajno korelirali sa lnNT-proBNP-om: E/E's ($r = 0.287$; $p = 0.025$), E/E'l ($r = 0.336$; $p = 0.008$) i E/E'a ($r = 0.325$; $p = 0.011$).

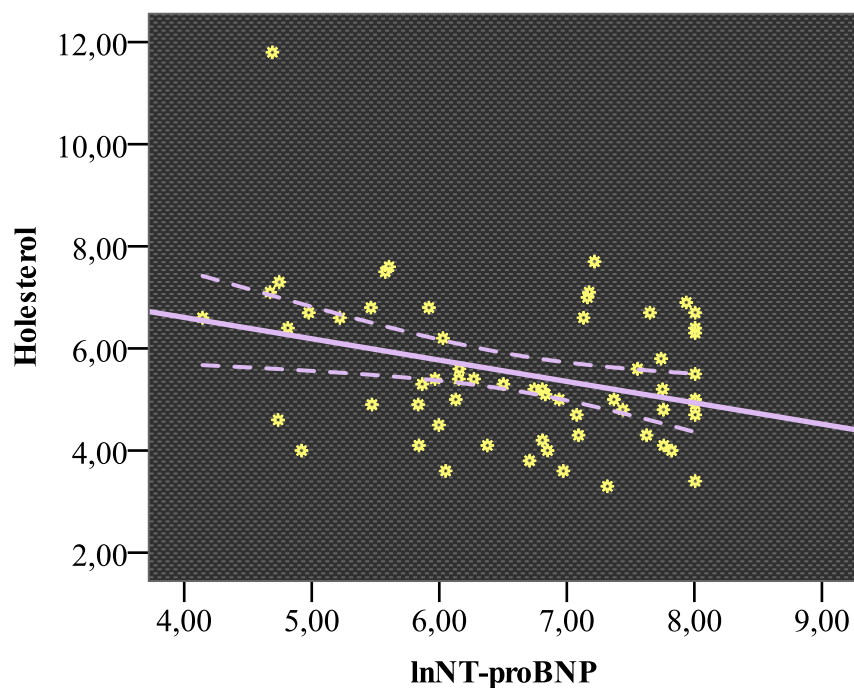
Za ispitivanje prediktivnog značaja parametara koji su se u univarijantnom modelu pokazali značajnim za logaritamski transformisane vrednosti NT-proBNP-a, takođe smo koristili *backward* model višestruke linearne regresije. Kao statistički značajni regresori u ovom modelu, izdvojili su se nivo hemoglobina, ukupni holesterol, dimenzije leve pretkomore (LA), frakcija skraćanja (FS) i odnos E/E's kao pokazatelj pritiska punjenja leve komore. Koeficijent determinacije (R^2) iznosio je 0.531, što znači da je oko 53% varijabiliteta ishodne varijable lnNT-proBNP objašnjeno variranjem ovih regresora, čiji je regresioni model prikazan u tabeli 41. Iz tabele vidimo da povećanje vrednosti Hb za 1 uzrokuje promenu nivoa lnNT-proBNP-a za 0.02 u suprotnom smeru, povećanje vrednosti holesterola za 1 uzrokuje promenu nivoa lnNT-proBNP-a za 0.308 u suprotnom smeru, a povećanje vrednosti FS za 1 uzrokuje promenu nivoa lnNT-proBNP-a za 0.071 takođe u suprotnom smeru. Sa druge strane, porast LA za 1 uzrokuje promenu vrednosti lnNT-proBNP-a za 0.461 u istom smeru i porast odnosa E/E's za 1 uzrokuje promenu vrednosti lnNT-proBNP-a za 0.086, takođe u istom smeru. Linearna povezanost između lnNT-proBNP-a kao zavisne i holesterola kao

nezavisne varijable grafički je prikazana u grafikonu 19, a izmedju lnNT-proBNP-a i FS u grafikonu 20.

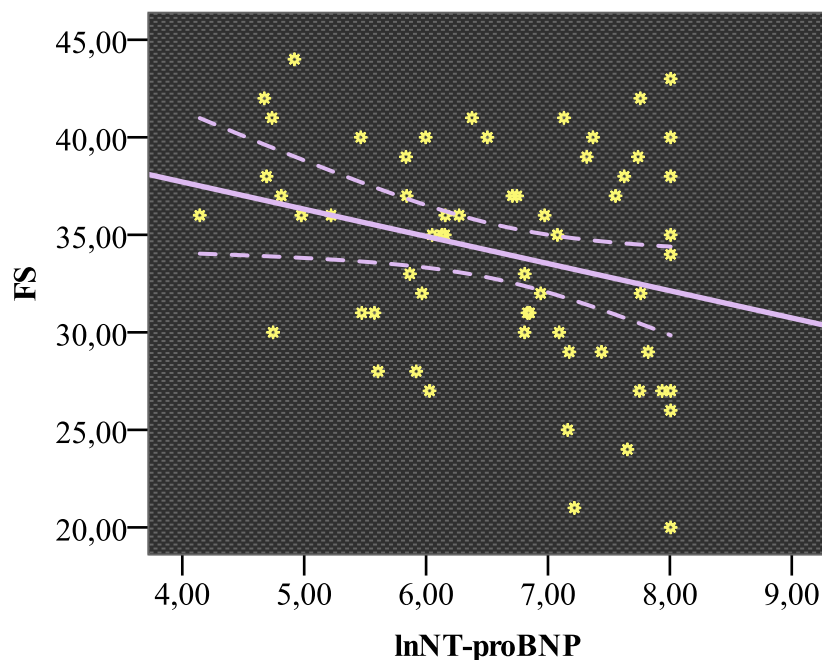
Tabela 39. Regresioni model lnNT-proBNP-a u bolesničkoj grupi

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	10.011	1.401		7.147	0.000
Hb	-0.020	0.007	-0.308	-3.081	0.003
Holesterol	-0.308	0.073	-0.404	-4.212	0.000
LA	0.461	0.223	0.206	2.065	0.044
FS	-0.071	0.019	-0.364	-3.738	0.000
E/E's	0.086	0.028	0.307	3.103	0.003

Zavisna varijabla lnNT-proBNP



Grafikon 19. Povezanost izmedju holesterola i lnNT-proBNP-a u bolesničkoj grupi



Grafikon 20. Povezanost izmedju FS i lnNT-proBNP-a u bolesničkoj grupi

4.3.3.2. Kontrolna grupa

Nakon logaritmovanja vrednosti NT-proBNP-a u bolesničkoj grupi, zabeležena je slaba, ali statistički značajna korelacija izmedju lnNT-proBNP-a i TV ($r = 0.453$; $p = 0.034$), kao i statistički značajna korelacija izmedju lnNT-proBNP-a i vrednosti krvnog pritiska: SKP ($r = 0.561$; $p = 0.007$) i SAP ($r = 0.470$; $p = 0.027$). Takodje, utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija izmedju lnNT-proBNP-a i nekih strukturnih ehokardiografskih parametara: LVESD ($r = 0.480$; $p = 0.024$), LVmass ($r = 0.520$; $p = 0.013$) i LVMI ($r = 0.483$; $p = 0.023$), dok je negativna korelacija zabeležena sa E'l ($r = -0.504$; $p = 0.017$) i Vp ($r = -0.514$; $p = 0.014$). Dalje, lnNTproBNP je značajno korelirao sa debljinom intimomedijalnog kompleksa karotidnih arterija: DIM_D ($r = 0.704$; $p = 0.000$), DIM_L ($r = 0.516$; $p = 0.014$) i DIM_{SR} ($r = 0.621$; $p = 0.002$).

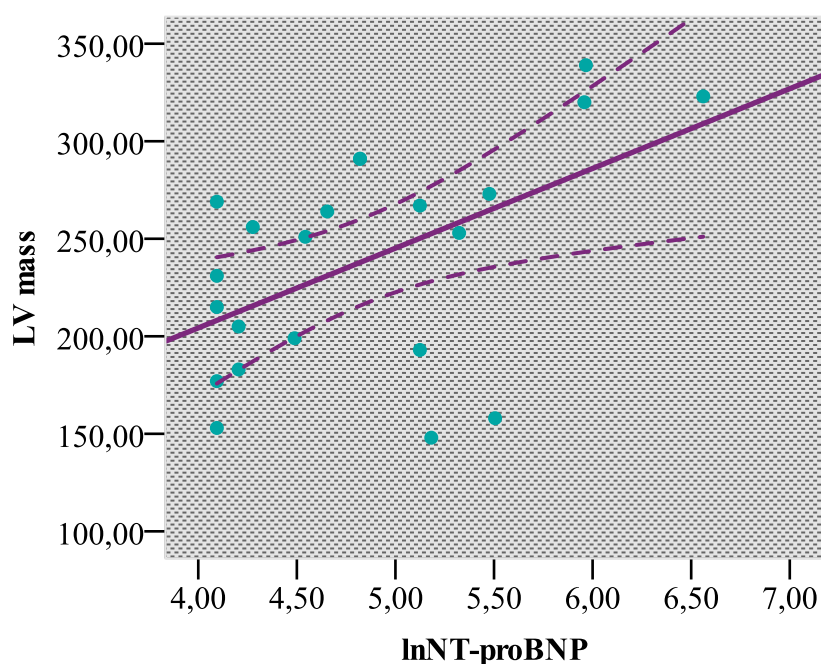
Backward modelom višestruke linearne regresije ispitan je prediktivni značaj ovih parametara za vrednosti lnNT-proBNP-a u kontrolnoj grupi. Kao statistički značajni regresori, izdvojili su se masa leve komore (LVmass) i DIM_{SR}, tabela 42. Koeficijent determinacije ovog modela (R^2) iznosio je 0.594, što znači da je 59% varijabiliteta ishodne varijable lnNT-proBNP objašnjeno varijabilnošću ova 2 regresora na sledeći

način: porast LVmass za 1 dovodi do promene lnNT-proBNP za 0.004 u istom smeru, dok porast DIM_{SR} uzrokuje promenu lnNT-proBNP za 2.18, takodje u istom smeru. Regresioni model prikazan je u tabeli 40, a linearna povezanost izmedju lnNT-proBNP-a i DIM_{SR} u grafikonu 21.

Tabela 40. Regresioni model lnNT-proBNP-a u kontrolnoj grupi

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	3.268	1.021		3.200	0.005
LVmass	0.004	0.002	0.351	2.230	0.039
E'I	-0.091	0.048	-0.306	-1.907	0.073
DIM _{SR}	2.181	0.871	0.414	2.504	0.022

Zavisna varijabla lnNT-proBNP



Grafikon 21. Povezanost izmedju LVmass i lnNT-proBNP-a u kontrolnoj grupi

4.3.4. TROPONIN I

4.3.4.1. Bolesnička grupa

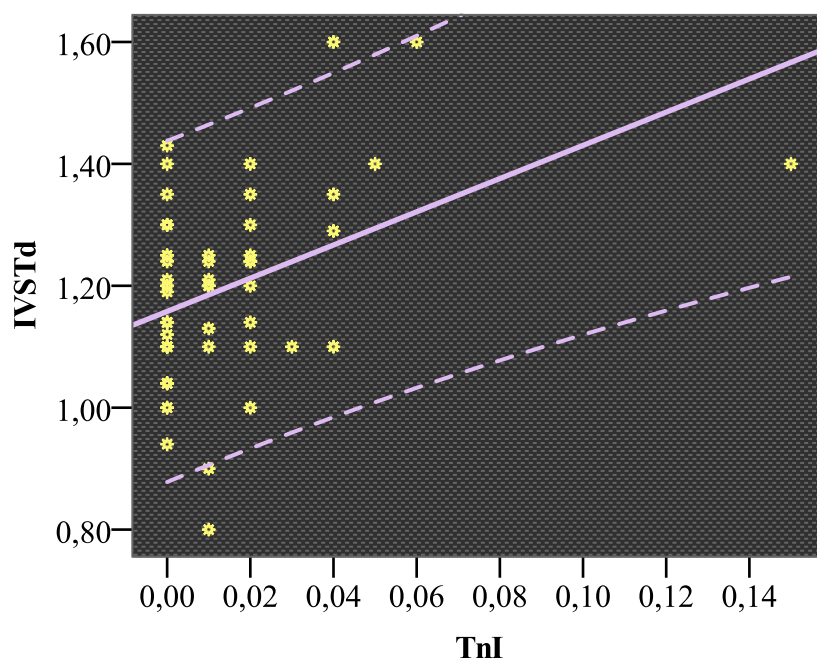
U bolesničkoj grupi registrovana je statistički značajna pozitivna korelacija TnI sa sistolnim krvnim pritiskom (SKP: $r = 0.286$; $p = 0.026$) i srednjim arterijskim pritiskom (SAP: $r = 0.291$; $p = 0.023$), dok korelacija sa dijastolnim krvnim pritiskom nije dostigla granicu statističke značajnosti (DKP: $r = 0.251$; $p = 0.051$). Od laboratorijskih parametara, koncentracija TnI je negativno korelirala sa nivoom hemoglobina ($r = -0.353$; $p = 0.01$) i hematokrita ($r = -0.364$; $p = 0.004$), a pozitivno sa nivoom VLDL-a ($r = 0.273$; $p = 0.034$). Takođe je utvrđena statistički značajna korelacija TnI sa strukturnim parametrima leve komore, kao što su: PWTd ($r = 0.329$; $p = 0.01$), IVSTd ($r = 0.414$; $p = 0.001$), LVmass ($r = 0.426$; $p = 0.001$), LVMI ($r = 0.414$; $p = 0.001$) i LVESD ($r = 0.299$; $p = 0.019$). Slaba korelacija je opservirana između TnI i funkcionalnih parametara: LVET ($r = 0.295$; $p = 0.021$) i MPI ($r = -0.276$; $p = 0.032$).

Primenom *backward* modela višestruke linearne regresije sa TnI kao zavisnom varijablom, dobili smo regresioni model u kome su se kao statistički značajni regresori izdvojili VLDL holesterol, debljina interventrikularnog septuma u dijastoli (IVSTd), end-sistolni dijametar leve komore (LVESD) i MPI indeks. Koeficijent determinacije regresionog modela (R^2) iznosio je 0.383, što znači da je oko 38 % varijabiliteta ishodne varijable TnI objašnjeno varijabilitetom navedenih regresora, kako je prikazano u tabeli 41. Iz tabele vidimo da povećanje vrednosti VLDL za 1 uzrokuje promenu nivoa TnI za 0.007 u istom smeru, dok povećanje IVSTd za 1 uzrokuje promenu nivoa TnI za 0.062 u istom smeru, a povećanje LVESD za 1 uzrokuje promenu nivoa TnI za 0.011 takođe u istom smeru. Sa druge strane, porast MPI za 1 izaziva promenu nivoa TnI za 0.047 u suprotnom smeru. Linearna povezanost između TnI kao zavisne i IVSTd kao nezavisne varijable grafički je prikazana u dijagramu 22.

Tabela 41. Regresioni model TnI

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	-0.082	0.026		-3.132	0.003
VLDL holesterol	0.007	0.003	0.241	2.285	0.026
IVSTd	0.062	0.016	0.406	3.821	0.000
LVESD	0.011	0.005	0.241	2.271	0.027
MPI	-0.047	0.018	-0.280	-2.639	0.011

Zavisna varijabla: TnI



Grafikon 22. Povezanost izmedju IVSTd i TnI u bolesničkoj grupi

4.3.4.2. Kontrolna grupa

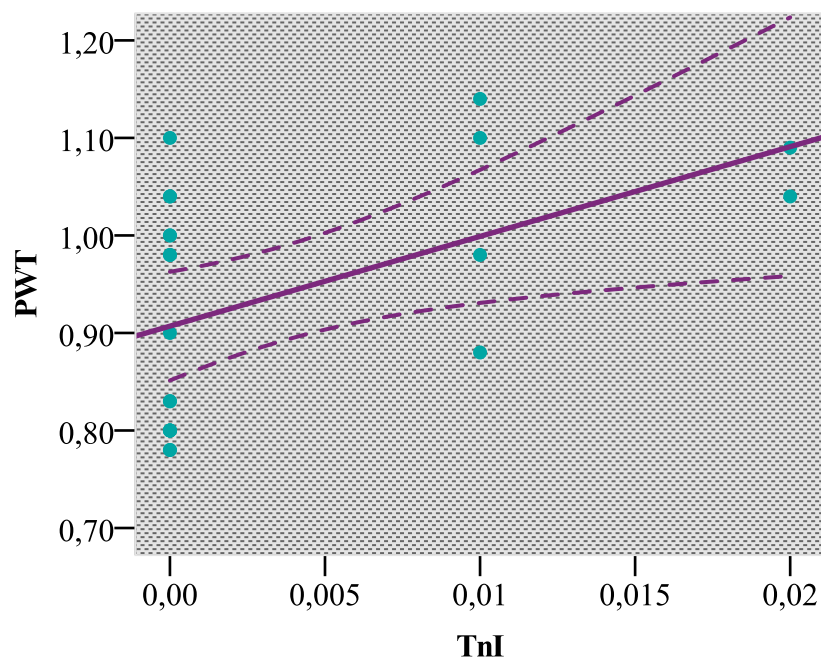
U kontrolnoj grupi registrovana je statistički značajna pozitivna korelacija TnI sa telesnom težinom ($r = 0.462$; $p = 0.030$) i BMI ($r = 0.555$; $p = 0.007$), a od laboratorijskih parametara sa nivoom Hb ($r = 0.484$; $p = 0.023$). Takodje je utvrđena statistički značajna korelacija TnI sa strukturnim parametrima leve komore, kao što su:

PWT ($r = 0.494$; $p = 0.019$) i LVM ($r = 0.592$; $p = 0.004$), dok je od funkcionalnih parametara zabeležena samo slaba povezanost sa jednim parametrom dijastolne funkcije, E'l ($r = 0.448$; $p = 0.021$).

Tabela 42. Regresioni model Tni u kontrolnoj grupi

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	-0.049	0.009		-5.258	0.000
PWTd	0.057	0.014	1.057	4.138	0.001
LVmass	-6.987E-005	0.000	-0.604	-2.347	0.031
E'l	0.001	0.000	0.510	3.609	0.002

Zavisna varijabla TnI



Grafikon 23. Povezanost izmedju PWTd i TnI u kontrolnoj grupi

Ispitivanjem prediktivne vrednosti ovih parametara za serumski nivo TnI u kontrolnoj grupi ispitanika, dobili smo regresioni model u kome su se kao statistički značajni regresori izdvojili debljina zadnjeg zida leve komore u dijastoli (PWTd), masa leve komore (LVmass) i parametar dijastolne funkcije dobijen iz tkivnog Doppler-a, E'l. Koeficijent determinacije ovog regresionog modela je 0.650, što znači da je 65% varijabiliteta TnI kao ishodne varijable objašnjeno variranjem ovih statistički značajnih regresora, a njihov prediktivni značaj prikazan je u tabeli 39. Linearna povezanost između TnI i PWTd kao nezavisne varijable grafički je prikazana u dijagramu 13.

4.3.5. TROPONIN T

4.3.5.1. Bolesnička grupa

U grupi bolesnika, registrovana je statistički značajna korelacija između TnT i starosne dobi ispitanika ($r = 0.277$; $p = 0.031$). Statistički značajna negativna korelacija zabeležena je između koncentracije TnT i nivoa hemoglobina ($r = -0.392$; $p = 0.002$), hematokrita ($r = -0.407$; $p = 0.001$), ukupnih proteina ($r = -0.239$; $p = 0.026$) i klirensa kreatinina izračunatog pomoću Cockroft-Gault-ove formule ($r = -0.317$; $p = 0.013$), dok je pozitivna korelacija TnT-a zabeležena sa nivoom ureje ($r = 0.342$; $p = 0.007$) i alkalne fosfataze ($r = 0.547$; $p = 0.000$). Koncentracija TnT je statistički značajno korelirala sa sledećim ehokardiografskim parametrima: pozitivno sa IVST ($r = 0,257$; $p = 0.045$), LVMI ($r = 0,273$; $p = 0.033$) i A'l ($r = 0,261$; $p = 0.043$), a negativno sa Vp ($r = -0,294$; $p = 0.021$), odnosom E'l/A'l ($r = -0,328$; $p = 0.010$) i odnosom E'a/A'a ($r = -0,332$; $p = 0.009$). Takođe, pronadjena je slaba pozitivna korelacija između koncentracije TnT i debljine intime-medije karotidnih arterija: DIM_D ($r = 0,263$; $p = 0.040$), DIM_L ($r = 0,271$; $p = 0.034$) i DIM_{SR} ($r = 0,283$; $p = 0.027$).

U modelu multivarijantne linearne regresije, kao statistički značajni regresori za koncentraciju TnT izdvojili su se nivo hematokrita, nivo alkalne fosfataze i A'l, kao parametar dijastolne funkcije leve komore. Koeficijent determinacije ovog regresionog modela iznosi 0.502, što znači da je približno 50% varijabiliteta ishodne varijable TnT objašnjeno variranjem ovih statistički značajnih regresora iz modela prikazanog u tabeli 43. Porast Hct za 1 praćen je promenom nivoa TnT za 0.273 u suprotnom smeru, dok je

porast alkalne fosfataze i vrednosti A'l za 1 praćen promenom nivoa TnT za 0.001 (alkalna fosfataza), odnosno 0.004 (A'l) u istom smeru.

Tabela 43. Regresioni model TnT u bolesničkoj grupi

Model	Nestandardizovani koeficijenti		Standardizovani koeficijenti	t	Sig.
	B	SE	Beta		
(Constant)	-0.060	0.063		-0.960	0.341
Starost	0.001	0.000	0.213	1.934	0.058
Hematokrit	-0.273	0.128	-0.234	-2.131	0.037
Alkalna fosfataza	0.001	0.000	0.529	5.374	0.000
A'l	0.004	0.002	0.228	2.376	0.021

Zavisna varijabla: TnT

4.3.5.2. Kontrolna grupa

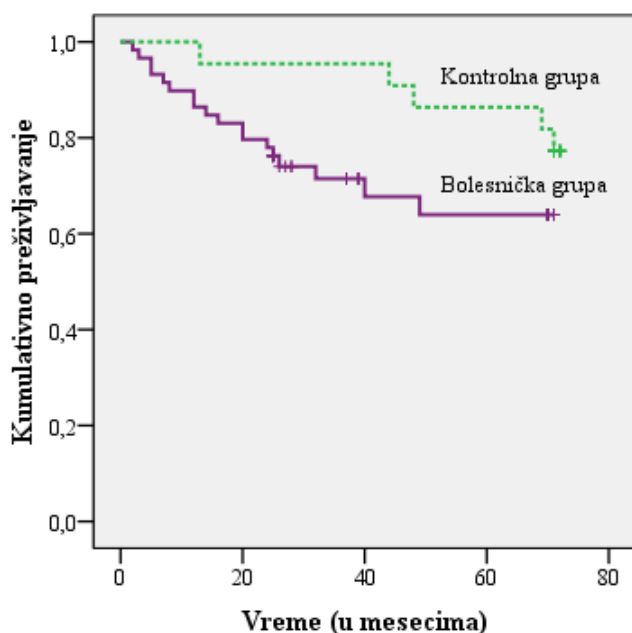
U kontrolnoj grupi, primenom Pearson-ovog koeficijenta korelacije nije dobijena statistički značajna povezanost između koncentracija TnT i kliničkih, laboratorijskih ili ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa.

4.4. PROGNOŠTIČKA VREDNOST KARDIJALNIH BIOMARKERA

Da bi ispitali prognostičku vrednost kardijalnih biomarkera za ukupni i kardiovaskularni mortalitet, neželjene kardiovaskularne događaje i progresiju ka terminalnoj fazi HBB, upotrebili smo Cox-ov proporcionalni regresioni model. Za analizu preživljavanja korišćeni su Kaplan Meier-ova metoda, kao i Log rank test za poredjenje preživljavanja medju posmatranim grupama.

4.4.1. PREDIKTORI UKUPNOG MORTALITETA

U grupi asimptomatskih bolesnika (n=61) sa uznapredovalom fazom HBB tokom perioda praćenja u rasponu od 2-71. meseca, zabeleženo je 18 smrtnih ishoda, od kojih je 9 objašnjeno kardiovaskularnim uzrocima: srčanom insuficijencijom (n=4), cerebrovaskularnim insultom (n=3) i infarktom miokarda (n=2). U preostalim slučajevima, uzroci smrtnog ishoda su bili: odbijanje dijaliznog lečenja (n=2), maligne bolesti (n=3), gastrointestinalne komplikacije (n=3) i infektivne komplikacije (n=1). Jedan bolesnik je izgubljen za praćenje nakon 6 meseci, a 1 je preminuo od posledica saobraćajne nesreće. U kontrolnoj grupi tokom perioda praćenja umrlo je 5 ispitanika, 2 od infarkta miokarda, 1 od cerebrovaskularnog insulta i 2 od malignih bolesti.



Grafikon 24. Kaplan Meier-ova kriva preživljavanja

Distribucija smrtnih ishoda u bolesničkoj grupi (n=18, 30.5%) nije se značajno razlikovala (n=5, 22.7%) u odnosu na kontrolnu grupu (p=0.490). Srednja vrednost preživljavanja u bolesničkoj grupi je iznosila 53.5 meseci (95% CI: 46.7-60.3), a u kontrolnoj grupi 66.8 meseci (95% CI: 61.0–72.6). Kumulativna stopa preživljavanja na kraju studije je iznosila 64.9% u bolesničkoj grupi i 77.3% u kontrolnoj grupi, pri čemu razlika nije bila statistički značajna (p=0.136, log-rank test), grafikon 24.

Tabela 44. Klinički, laboratorijski i ehokardiografski parametri bolesnika u funkciji mortaliteta

Varijable	Preminuli (n=18)	Preživeli (n=43)	test	p
Starost (godine)	71.8±6.4	58.8±14.0	t = 4.945	0.000
Body mass index (kg/m²)	24.7±6.0	26.6±5.0	t = -1.316	0.193
Sistolni KP (mmHg)	147.8±18.7	136.6±20.1	t = 2.012	0.049
Hemoglobin (g/l)	94.4±13.3	106.4±20.1	t = -2.713	0.009
Albumini (g/l)	35.5±5.0	40.5±6.2	t = -2.989	0.004
Holesterol (mmol/l)	5.0±1.1	5.7±1.5	t = -1.644	0.106
Kreatinin (mmol/l)	402.4±140.8	335.1±93.1	t = 1.863	0.075
Urea (mmol/l)	21.9±5.8	17.1±4.8	t = 3.046	0.005
Klirens kreatinina (ml/min)	13.8 ± 4.7	22.3±9.8	t = 4.563	0.000
LA (mm)	4.6 ± 0.3	4.3±0.5	t = 2.559	0.013
LVMI (g/m²)	186.2±45.9	163.2±49.0	t = 1.707	0.093
EF_{Simpson} (%)	57.5±8.2	53.3±8.2	t = 1.802	0.077
E's (cm/s)	6.6±1.7	7.6±2.0	t = -1.984	0.052
E's/A's	0.62±0.19	0.68±0.23	t = -1.029	0.307
E/E's	10.1±4.7	8.6±3.4	t = 1.409	0.164
E'l (cm/s)	8.6±2.2	10.6±3.1	t = -2.526	0.014
E'l/A'l	0.66 ± 0.21	0.86 ± 0.29	t = -2.634	0.011
E/E'l	7.8 ± 3.7	6.3 ± 2.6	t = 1.566	0.130
DIM_{SR} (mm)	1.0±0.1	0.83±0.11	t = 4.390	0.000
Valvularne kalcifikacije (%)	72.2	37.2	χ ² = 6.237	0.013
Karotidni plakovi (%)	100	88.4	χ ² = 2.280	0.131
Kalcifikovani plakovi (%)	83.3	51.2	χ ² = 5.503	0.019
lnCRP	1.24±1.28	1.24±1.54	t = 0.011	0.992
TnI (ng/ml)	0.013±0.02	0.012±0.02	t = 0.155	0.877
TnT (ng/ml)	0.058±0.062	0.025±0.056	t = 1.946	0.056
lnBNP	5.3±1.0	4.8±0.9	t = 1.873	0.066
lnNT-proBNP	7.2 ± 0.9	6.4 ± 1.1	t = 2.877	0.006

Legenda: LA – leva pretkomora; LVMI – indeks mase leve komore; EF – e젝ciona frakcija; E's, E'l – tkivna brzina miokarda u ranoj dijastoli merena na septalnom i lateralnom uglu mitralnog anulusa (tkivni Doppler); E's/ A's, E'l/ A'l – odnos izmedju tkivnih brzina miokarda u ranoj i kasnoj dijastoli, merenih na septalnoj i lateralnoj strani mitralnog anulusa; E/E's, E/E'l - odnos izmedju brzina mitralnog protoka i tkivnih brzina mitralnog anulusa u ranoj dijastoli merenih septalno i lateralno (parametri izmereni konvencionalnom i Doppler metodom); DIMsr – prosečna debljina intime-medije obe karotidne arterije;

Grupa preminulih bolesnika sa HBB u odnosu na grupu preživelih razlikovala se po sledećim kliničkim i laboratorijskim parametrima: bila je značajno starija ($p < 0.001$) i sa višim vrednostima SKP ($p < 0.05$), nivo Hb ($p < 0.01$), albumina ($p < 0.01$) i CCr ($p < 0.001$) je bio niži, dok je nivo ureje u serumu bio značajno viši ($p = 0.005$). Od ehosonografskih parametara KV statusa, u grupi umrlih dimenzije LA su bile značajno više ($p < 0.05$), ali razlika u srednjim vrednostima LVMI nije dosegla granicu statističke značajnosti. Sistolna funkcija se nije značajno razlikovala medju grupama (EF, $p = 0.077$), dok su se od parametara dijastolne funkcije značajno razlikovali parametri tkivnog Doppler-a izmereni na lateralnom uglu mitralnog anulusa: E'l ($p < 0.05$) i odnos E'l/A'l ($p < 0.05$). Srednja vrednost DIM_{SR} karotidnih arterija je bila značajno viša u grupi umrlih ($p < 0.001$), a razlika u distribuciji valvularnih kalcifikacija ($p < 0.05$) i kalcifikovanih karotidnih plakova ($p < 0.05$) izmedju 2 grupe je takodje pokazala statističku značajnost. Od kardijalnih biomarkera, samo je vrednost lnNT-proBNP-a bila statistički značajno viša kod preminulih bolesnika ($p < 0.01$), dok razlika u vrednostima TnT-a nije prešla granicu statističke značajnosti, tabela 44.

U tabeli 45 prikazani su najvažniji pojedinačni prediktori mortaliteta, statistički analizirani primenom Cox-ove univarijantne regresione analize. Univarijantnom analizom, kao pojedinačni prediktori mortaliteta medju kliničkim i laboratorijskim parametrima izdvojili su se starije životno doba ($p = 0.001$), niži nivoi Hb ($p < 0.05$), albumina ($p < 0.05$) i CCr ($p < 0.001$) i više serumske vrednosti kreatinina ($p < 0.05$) i ureje ($p = 0.001$). Od ehokardiografskih parametara značajnu pojedinačnu prediktivnu vrednost pokazale su veće dimenzije LA ($p < 0.05$), parametri dijastolne funkcije mereni metodom tkivnog Doppler-a na lateralnom uglu mitralnog anulusa (E'l, $p < 0.01$; E'l/A'l, $p < 0.05$; E/E'l, $p < 0.05$), valvularne kalcifikacije ($p < 0.05$), DIM zajedničke karotidne arterije ($p < 0.001$) i kalcifikovani karotidni plakovi ($p < 0.05$). Od kardijalnih biomarkera,

značajna prediktivna vrednost je dobijena za lnNT-proBNP ($p < 0.01$) i za troponin T ($p < 0.05$), dok za lnBNP nivo značajnosti nije prešao statistički utvrđenu granicu.

Tabela 45. Univarijantna Cox regresiona analiza faktora povezanih sa ukupnim mortalitetom

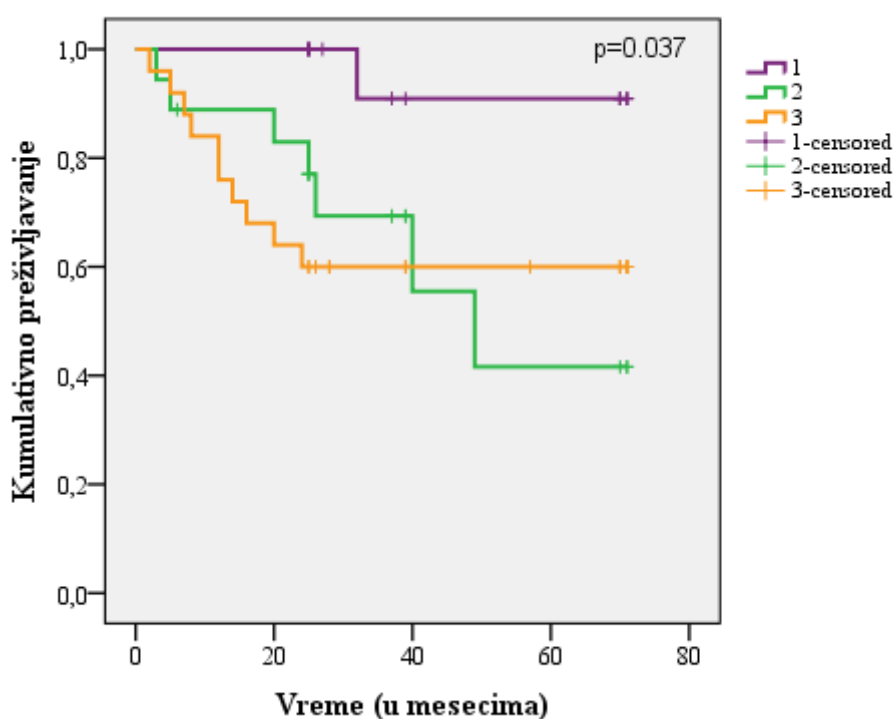
Varijable	Odds ratio	95% confidence intervals	p
Starost (godine)	1.085	1.033-1.139	0.001
Body mass index (kg/m^2)	0.930	0.839-1.031	0.169
Sistolni KP (mmHg)	1.016	0.995-1.037	0.137
Hemoglobin (g/l)	0.964	0.937-0.992	0.012
Albumini (g/l)	0.913	0.842-0.989	0.026
Holesterol (mmol/l)	0.674	0.444-1.022	0.063
Kreatinin (mmol/l)	1.005	1.001-1.009	0.018
Urea (mmol/l)	1.147	1.056-1.246	0.001
Klirens kreatinina (ml/min)	0.861	0.788-0.940	0.000
LA (mm)	2.821	1.101-7.225	0.031
LVMI (g/m^2)	1.007	0.999-1.105	0.105
EF Simpson (%)	1.047	0.988-1.109	0.118
E's (cm/s)	0.754	0.568-1.000	0.05
E's/A's	0.391	0.031-4.968	0.469
E/E's	1.089	0.988-1.201	0.871
E'l (cm/s)	0.780	0.651-0.934	0.007
E'l/A'l	0.045	0.004-0.571	0.017
E/E'l	1.160	1.109-1.322	0.025
DIM_{SR} (mm)	500.992	9.874-25419.053	0.002
Valvularne kalcifikacije (%)	3.479	1.237-9.786	0.018
Aortne kalcifikacije (%)	4.783	1.697-13.477	0.003
Kalcifikovani plakovi (%)	3.871	1.119-13.391	0.033
lnCRP	1.057	0.752-1.485	0.751
TnI (ng/ml)	3.823	0.000-1.006E8	0.878
TnT (ng/ml)	485.421	1.369-172135.984	0.039
lnBNP	1.635	0.999-2.676	0.051
lnNT-proBNP	2.195	1.243-3.878	0.007

U model multivarijantne Cox regresione analize uključene su sve varijable koje su pokazale statističku značajnost prema ukupnom mortalitetu na nivou verovatnoće 0.05 primenom univarijantne analize: starost, Hb, albumini, kreatinin, urea, CCr, LA, E'l,

E'1/A'1, E/E'1, DIM, valvularne kalcifikacije, aortne kalcifikacije, kalcifikovani karotidni plakovi, TnT i lnNT-proBNP. Kao nezavisni prediktori mortaliteta potvrdili su se vrednost uree u serumu, prisustvo aortnih kalcifikacija i lnNT-proBNP, tabela 46.

Tabela 46. Multivarijantna regresiona analiza faktora povezanih sa ukupnim mortalitetom

Varijable	B	SE	Wald	df	p	Exp (B)	95% CI
Urea (mmol/l)	0.135	0.045	9.062	1	0.003	1.114	1.048-1.250
Aortne kalcifikacije (%)	2.067	0.585	12.495	1	0.000	7.900	2.511-24.852
lnNT-proBNP	0.936	0.319	8.593	1	0.003	2.549	1.364-4.766

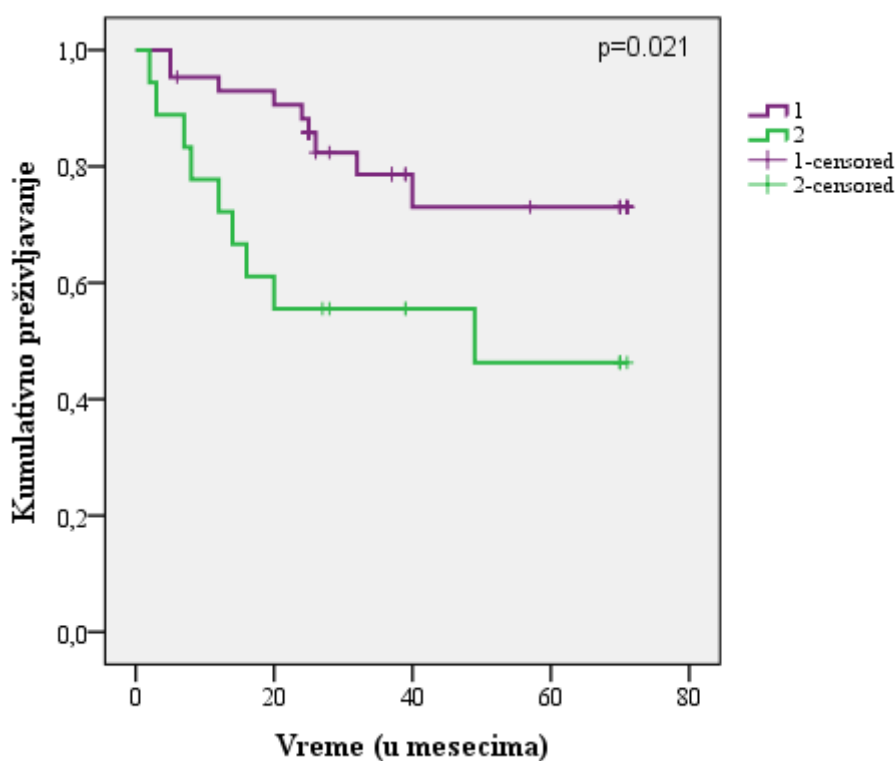


Grafikon 25. Kaplan-Meier-ova analiza preživljavanja bolesnika stratifikovanih prema tercilima NT-proBNP-a u odnosu na ukupni mortalitet

Kaplan Meier-ovom krivom prikazano je preživljavanje bolesnika sa HBB u odnosu na nivo NT-proBNP-a. Bolesnici u podeljeni u 3 stratusa: stratus 1 sa nivoom NT-proBNP-a ≤ 400 pg/ml (n=18), stratus 2 sa nivoom NT-proBNP-a od 401-1200 pg/ml (n=18) i

stratus 3 sa nivoom NT-proBNP-a ≥ 1201 pg/ml (n=25). U grupi 1 zabeležen je 1 smrtni slučaj, u grupi 2 - 7, a u grupi 3 – 10 smrtnih slučajeva. Stratifikovana analiza pokazala je da bolesnici sa nižim nivoom NT-proBNP-a imaju značajno bolje preživljavanje u odnosu na bolesnike sa višim nivoima NT-proBNP-a ($p < 0.05$, log-rank test), grafikon 25.

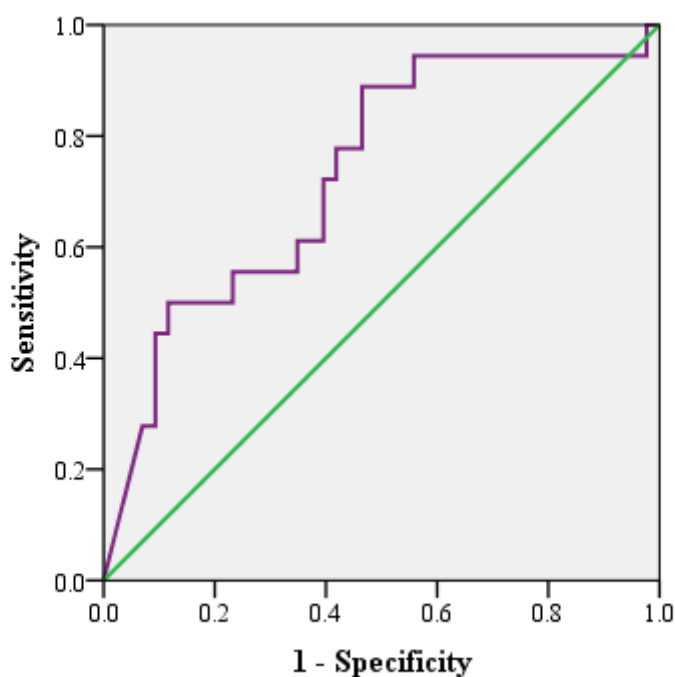
Razlika u ukupnom preživljavanju takodje je uočena i u odnosu na nivo TnT-a. Bolesnici su stratifikovani u 2 grupe, grupu 1 sa nivoom TnT-a < 0.1 pg/ml (n=43) i grupu 2 sa nivoom TnT-a ≥ 0.1 pg/ml. Od 43 bolesnika svrstanih u grupu 1 umrlo je 9, dok je od 18 bolesnika svrstanih u grupu 2 umrlo takodje 9. Log-rank test je pokazao značajnu razliku u ukupnom preživljavanju izmedju prve i druge grupe ($p < 0.05$), grafikon 26.



Grafikon 26. Kaplan-Meier-ova kriva preživljavanja bolesnika stratifikovanih prema nivou TnT-a u odnosu na ukupni mortalitet

Senzitivnost i specifičnost NT-proBNP-a u predviđanju ukupnog mortaliteta asimptomatskih bolesnika sa HBB ispitivana je analizom ROC (*receiver operating*

characteristic) krive. Optimalna cut off vrednost za predviđanje ukupnog mortaliteta je 992 pg/ml, sa specifičnošću 62.8% i senzitivnošću 61.1% ($p=0.005$, površina ispod krive – AUC 0.732), grafikon 27. Senzitivnost i specifičnost TnT za ukupni mortalitet se nije pokazala značajnom ($p=0.073$), pa ovi rezultati nisu prikazani grafički.



Grafikon 27. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za NT-proBNP u predviđanju ukupnog mortaliteta

4.4.2. PREDIKTORI KARDIOVASKULARNOG MORTALITETA

U grupi bolesnika sa HBB tokom perioda praćenja (2-71. meseca) od kardiovaskularnih uzroka smrti preminulo je 9 bolesnika. Distribucija kardiovaskularnih smrti u bolesničkoj grupi ($n=9$, 14.8%) nije se značajno razlikovala ($n=3$, 13.6%) u odnosu na kontrolnu grupu ($p=0.898$). Srednja vrednost preživljavanja u bolesničkoj grupi je iznosila 61.6 meseci (95% CI: 56.0–67.2), a u kontrolnoj grupi 67.9 meseci (95% CI: 62.3–73.5). Kumulativna stopa preživljavanja na kraju studije je iznosila 80.7% u bolesničkoj grupi i 86.1% u kontrolnoj grupi, pri čemu razlika nije bila statistički značajna ($p=0.447$, log-rank test).

Najvažniji pojedinačni prediktori kardiovaskularnog mortaliteta, analizirani putem Cox-ove univarijantne regresione analize prikazani su u tabeli 47. Među kliničkim i laboratorijskim parametrima univarijantnom analizom izdvojile su se sledeće varijable: starije životno doba ($p=0.01$), niži BMI ($p<0.01$), niži nivo Hb ($p<0.001$) i CCr ($p<0.01$), kao i više serumske vrednosti uree ($p=0.05$). Od ehosonografskih parametara kardiovaskularnog statusa, značajnu pojedinačnu prediktivnu vrednost za kardiovaskularni mortalitet pokazali su parametri dijastolne funkcije mereni metodom tkivnog Doppler-a na septalnom (E's, $p<0.05$; E/E's, $p<0.05$) i lateralnom uglu mitralnog anulusa (E'l, $p<0.01$; E'l/A'l, $p<0.05$; E/E'l, $p<0.05$), aortne i ukupne valvularne kalcifikacije ($p<0.05$) i DIM zajedničke karotidne arterije ($p<0.05$). Od kardijalnih biomarkera, značajna prediktivna vrednost je dobijena za lnBNP ($p<0.01$), lnNT-proBNP ($p=0.01$) i za TnT ($p<0.01$).

U model multivarijantne Cox regresione analize uključene su sve varijable koje su pokazale statističku značajnost prema kardiovaskularnom mortalitetu na nivou verovatnoće 0.05 primenom univarijantne analize: starost, BMI, Hb, urea, CCr, E's, E/E's, E'l, E'l/A'l, E/E'l, DIM, valvularne kalcifikacije, aortne kalcifikacije, TnT, lnBNP i lnNT-proBNP. Kao nezavisni prediktori kardiovaskularnog mortaliteta potvrdili su se vrednost uree u serumu, prisustvo aortnih kalcifikacija, vrednosti TnT i lnBNP, tabela 48.

Tabela 47. Univarijantna Cox regresiona analiza faktora povezanih sa kardiovaskularnim mortalitetom

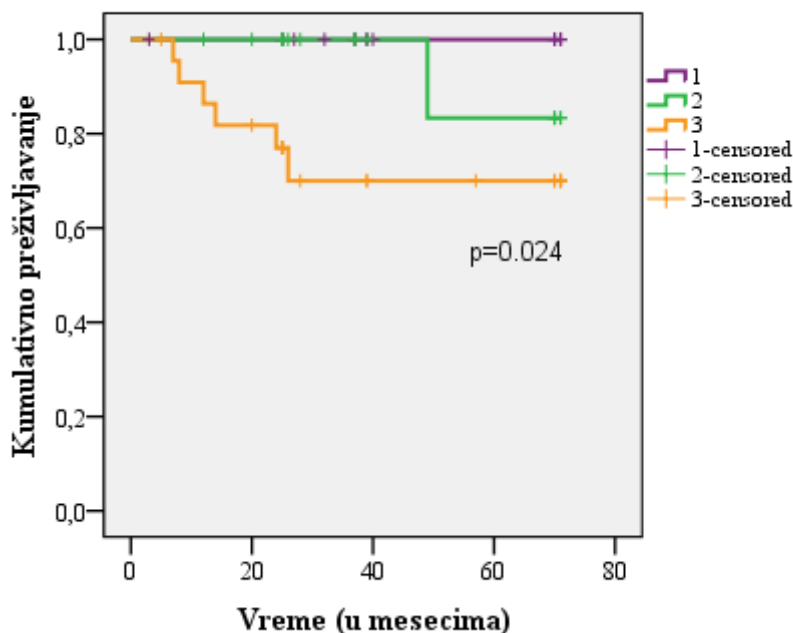
Varijable	Odds ratio	95% confidence intervals	p
Starost (<i>godine</i>)	1.105	1.024-1.192	0.01
Body mass index (<i>kg/m²</i>)	0.864	0.733-1.017	0.08
Sistolni KP (<i>mmHg</i>)	1.013	0.983-1.043	0.403
Hemoglobin (<i>g/l</i>)	0.941	0.901-0.983	0.006
Albumini (<i>g/l</i>)	0.922	0.823-1.032	0.156
Holesterol (<i>mmol/l</i>)	0.598	0.320-1.117	0.107
Kreatinin (<i>mmol/l</i>)	1.003	0.996-1.009	0.397
Urea (<i>mmol/l</i>)	1.143	1.017-1.284	0.025
Klirens kreatinina (<i>ml/min</i>)	0.816	0.709-0.939	0.005
LA (<i>mm</i>)	3.586	0.943-13.636	0.061
LVMI (<i>g/m²</i>)	1.011	1.000-1.021	0.051
EF Simpson (%)	1.068	0.981-1.162	0.127
E's (<i>cm/s</i>)	0.548	0.331-0.906	0.019
E's/A's	0.02	0.000-2.565	0.114
E/E's	1.149	1.018-1.296	0.024
E'l (<i>cm/s</i>)	0.701	0.536-0.917	0.009
E'l/A'l	0.005	0.000-0.374	0.016
E/E'l	1.231	1.035-1.463	0.019
DIM _{SR} (<i>mm</i>)	721.306	2.410-215845.709	0.024
Valvularne kalcifikacije (%)	10.618	1.326-85.035	0.026
Aortne kalcifikacije (%)	14.855	1.849-119.309	0.011
Kalcifikovani plakovi (%)	6.152	0.768-49.265	0.087
lnCRP	1.302	0.799-2.123	0.289
TnI (<i>ng/ml</i>)	47.682	0.000-7.661E10	0.721
TnT (<i>ng/ml</i>)	30848.925	39.849-2388E7	0.002
lnBNP	2.821	1.416-5.619	0.003
lnNT-proBNP	5.012	1.479-16.990	0.01

Tabela 48. Multivarijantna regresiona analiza faktora povezanih sa kardiovaskularnim mortalitetom

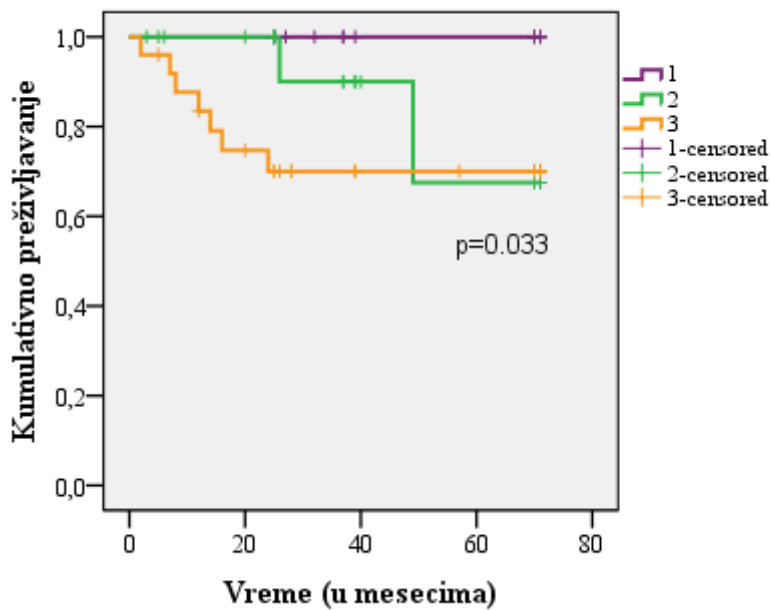
Varijable	B	SE	Wald	df	p	Exp (B)	95% CI
Urea (<i>mmol/l</i>)	0.292	0.146	3.987	1	0.046	1.339	1.005-1.784
Aortne kalcifikacije (%)	4.356	1.548	7.921	1	0.005	77.979	3.753-1620.038
TnT (<i>ng/ml</i>)	21.856	9.212	5.629	1	0.018	3.105E9	44.734-2156E17
lnBNP	1.841	0.637	8.361	1	0.004	6.300	1.809-21.935

Preživljavanje bubrežnih bolesnika u odnosu na kardiovaskularne uzroke smrti, a prema nivoima BNP-a, NT-proBNP-a i TnT-a prikazali smo Kaplan Meier-ovim krivama

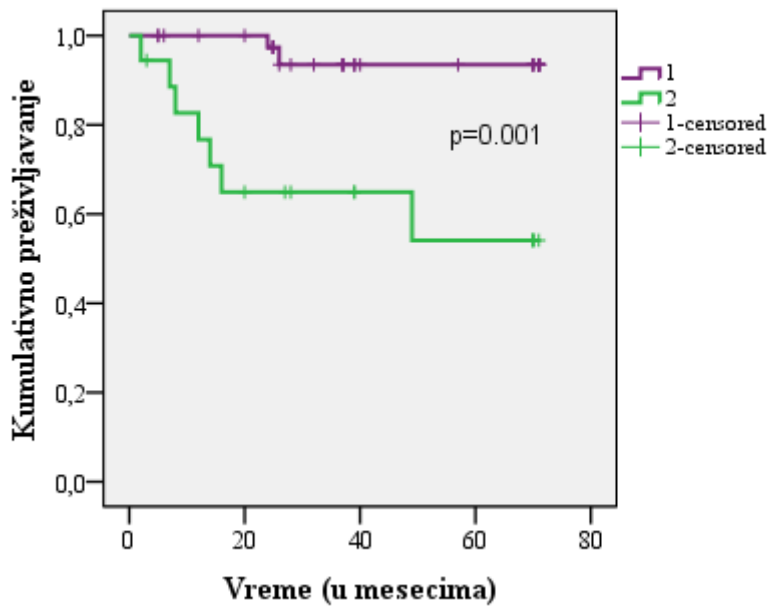
preživljavanja. Prema nivou BNP-a, bolesnici su podeljeni u 3 stratusa: stratus 1 sa nivoom BNP-a ≤ 75.5 pg/ml (n=17), stratus 2 sa nivoom BNP-a između 75.6 i 170 pg/ml (n=17) i stratus 3 sa nivoom BNP-a ≥ 170.1 pg/ml (n=23). U grupi 1 nije zabeležena nijedna smrt kardiovaskularnog porekla, u grupi 2 zabeležena je 1, a u grupi 3 - 6 takvih smrti. Stratifikovana analiza pokazala je da bolesnici sa nižim nivoima BNP-a imaju značajno bolje kardiovaskularno preživljavanje u odnosu na bolesnike sa višim nivoima BNP-a ($p < 0.05$, log-rank test), grafikon 28. Statistički značajna razlika je zabeležena i između 3 grupe bolesnika sa različitim nivoima NT-proBNP-a (grupa 1: NT-proBNP ≤ 400 pg/ml, grupa 2: NT-proBNP od 401-1200 pg/ml i grupa 3: NT-proBNP ≥ 1201 pg/ml) u odnosu na kardiovaskularno preživljavanje ($p < 0.05$, log-rank test), grafikon 29. U grupi 1 nije evidentirana nijedna smrt kardiovaskularnog porekla, u grupi 2 evidentirane su 2, a u grupi 3 - 7 takvih smrti. Log-rank test je pokazao još značajniju razliku u kardiovaskularnom preživljavanju između grupe od 43 bolesnika sa nivoom TnT < 0.1 ng/ml (2 kardiovaskularna uzroka smrti) i grupe od 18 bolesnika sa nivoom TnT-a ≥ 0.1 ng/ml (7 kardiovaskularnih uzroka smrti), $p = 0.001$, grafikon 30.



Grafikon 28. Kaplan Meier-ova analiza preživljavanja bolesnika stratifikovanih prema tercilima BNP-a u odnosu na kardiovaskularni mortalitet

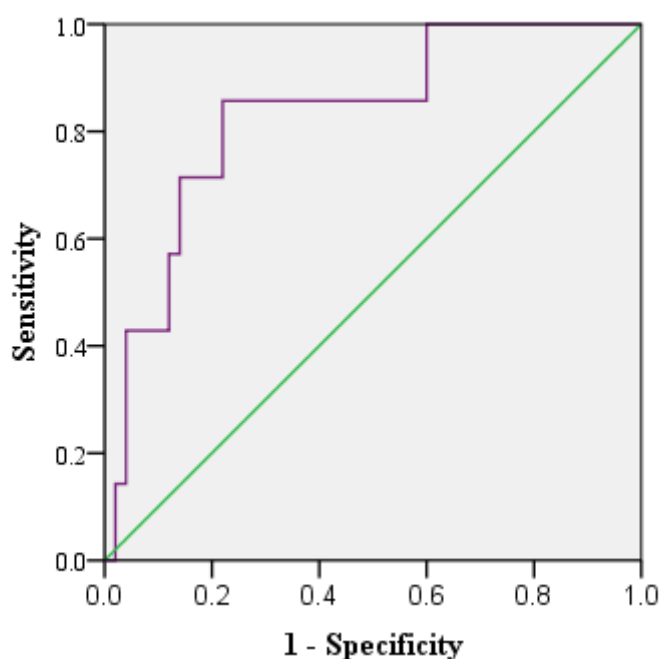


Grafikon 29. Kaplan Meier-ova analiza preživljanja bolesnika stratifikovanih prema tercilima NT-proBNP-a u odnosu na kardiovaskularni mortalitet

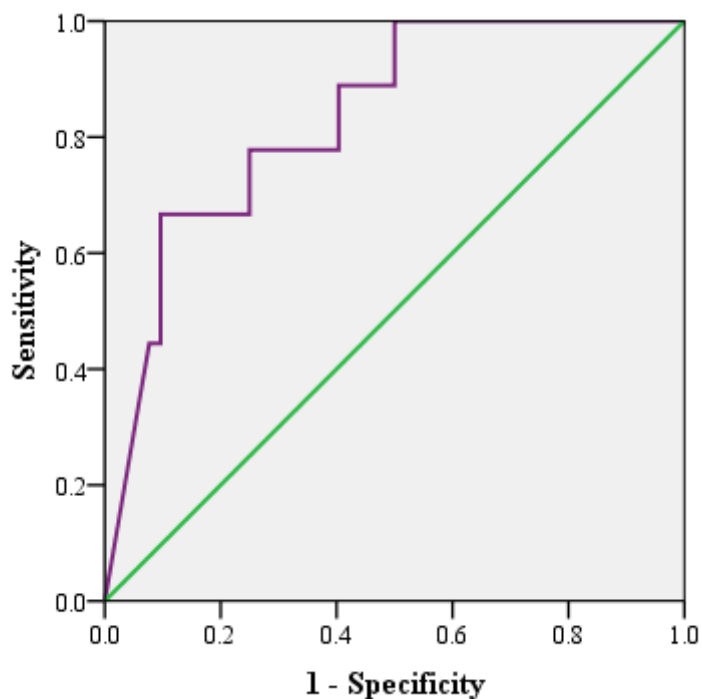


Grafikon 30. Kaplan Meier-ova analiza preživljanja bolesnika stratifikovanih prema nivou TnT-a u odnosu na kardiovaskularni mortalitet

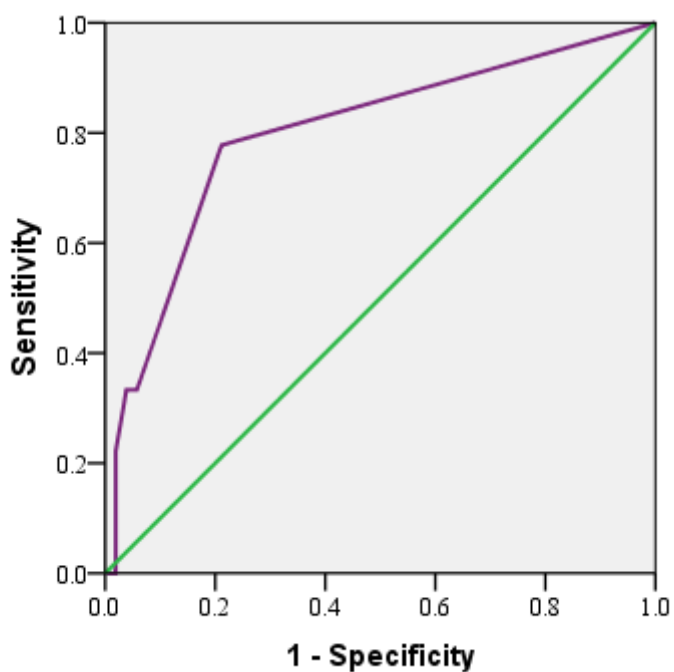
Cut off vrednosti BNP-a, NT-proBNP-a i TnT u predviđanju kardiovaskularnog mortaliteta dobijene su analizom ROC krive za svaki od ovih biomarkera. Optimalna cut off vrednost BNP-a iznosila je 220.8 pg/ml, sa senzitivnošću 85.7% i specifičnošću 78% ($p=0.005$; AUC= 0.831; 95% CI: 0.677-0.986), grafikon 31. Za NT-proBNP dobijena je cut off vrednost 1480 pg/ml, sa senzitivnošću 77.8% i specifičnošću 75%. Površina pod krivom je bila AUC=0.833, sa intervalom poverenja 95% CI: 0.706-0.961 i statističkom značajnošću $p=0.002$, grafikon 32. Dijagnostička vrednost TnT za kardiovaskularni mortalitet se takodje pokazala značajnom ($p=0.005$; AUC=0.798; 95% CI: 0.625-0.971), pri čemu je utvrđena cut off vrednost 0.05 ng/ml, sa senzitivnošću 77.8% i specifičnošću 78.8%, grafikon 33.



Grafikon 31. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za BNP u predviđanju kardiovaskularnog mortaliteta



Grafikon 32. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za NT-proBNP u predviđanju kardiovaskularnog mortaliteta

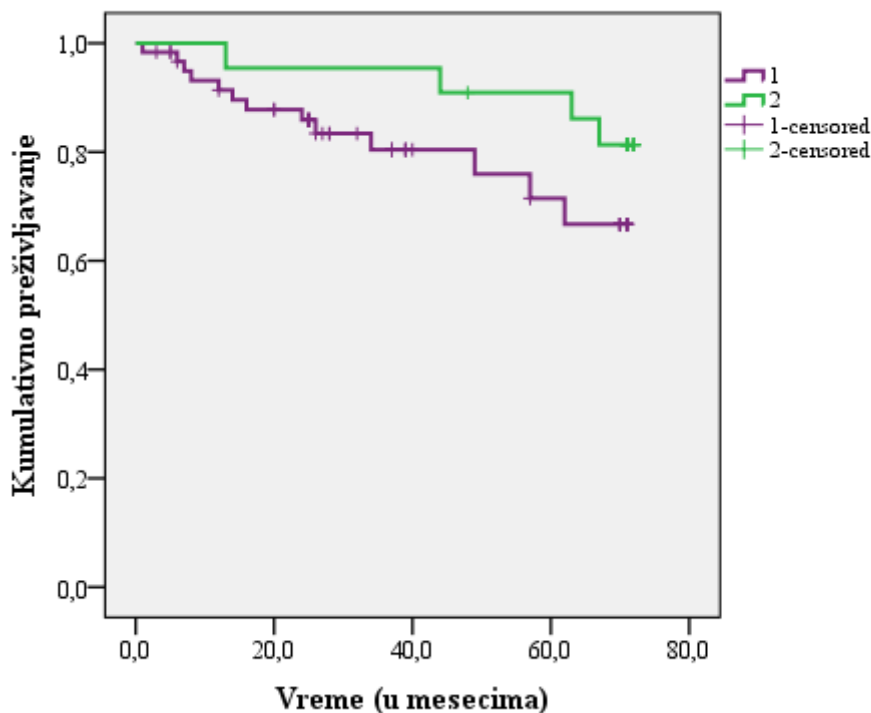


Grafikon 33. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za TnT u predviđanju kardiovaskularnog mortaliteta

4.4.3. PREDIKTORI FATALNIH I NE-FATALNIH KARDIOVASKULARNIH DOGADJAJA

U grupi bolesnika sa HBB tokom perioda praćenja (od 1.-71. meseca) neželjeni kardiovaskularni događaji, fatalni i ne-fatalni, zabeleženi su kod 13 bolesnika. Kod 7 bolesnika evidentirana je srčana insuficijencija, kod 2 infarkt miokarda, kod 1 hemodinamski značajna aritmija i kod 3 cerebrovaskularni insult. U kontrolnoj grupi, kod 3 bolesnika je zabeležen infarkt miokarda, a kod 1 cerebrovaskularni insult. Distribucija kardiovaskularnih događaja u bolesničkoj grupi (n=13, 21.3%) nije se značajno razlikovala (n=4, 18.2%) u odnosu na kontrolnu grupu (p=0.755). Srednja vrednost preživljavanja u bolesničkoj grupi je iznosila 58.3 meseci (95% CI: 52.1–64.5), a u kontrolnoj grupi 67.4 meseci (95% CI: 61.8–72.9). Kumulativna stopa preživljavanja na kraju studije je iznosila 66.7% u bolesničkoj grupi i 81.3% u kontrolnoj grupi, pri čemu razlika nije bila statistički značajna (p=0.167, log-rank test).

Faktori rizika potencijalno značajni u predviđanju fatalnih i ne-fatalnih kardiovaskularnih događaja analizirani su pomoću Cox-ove univarijantne regresione analize i prikazani u tabeli 49. U grupi kliničkih i laboratorijskih parametara, kao značajni pojedinačni prediktori pokazali su se: starije životno doba (p=0.001), niže vrednosti BMI-a (p<0.05), Hb-a (p<0.01), holesterola (p<0.05) i CCr-a (p<0.001). Medju ehokardiografskim parametrima, značajnu pojedinačnu prediktivnu vrednost pokazali su LA (p<0.05) i LVMI (p=0.001), kao i parametri dijastolne funkcije mereni metodom tkivnog Doppler-a na septalnom (E's, p<0.01; E's/A's, p<0.05; E/E's, p<0.01) i lateralnom uglu mitralnog anulusa (E'l, p=0.001; E'l/A'l, p<0.05; E/E'l, p=0.001). Od kardijalnih biomarkera, kao značajni prediktori izdvojili su se lnBNP (p<0.001), lnNT-proBNP (p<0.01) i troponin T (p=0.001).



Grafikon 34. Preživljavanje u bolesničkoj (1) i kontrolnoj grupi (2) u odnosu na neželjene kardiovaskularne događaje

Sve varijable koje su u univarijantnoj analizi pokazale statističku značajnost prema kardiovaskularnim događajima na nivou verovatnoće 0.05, uključene su u model multivarijantne Cox regresione analize: starost, BMI, Hb, holesterol, CCr, E's, E's/A's, E/E's, E'l, E'l/A'l, E/E'l, TnT, lnBNP i lnNT-proBNP. Nezavisnu prediktivnu vrednost pokazali su starije životno doba ($p < 0.05$), niži BMI ($p < 0.05$), odnos E'l/A'l ($p < 0.01$) i lnBNP ($p = 0.001$), tabela 50.

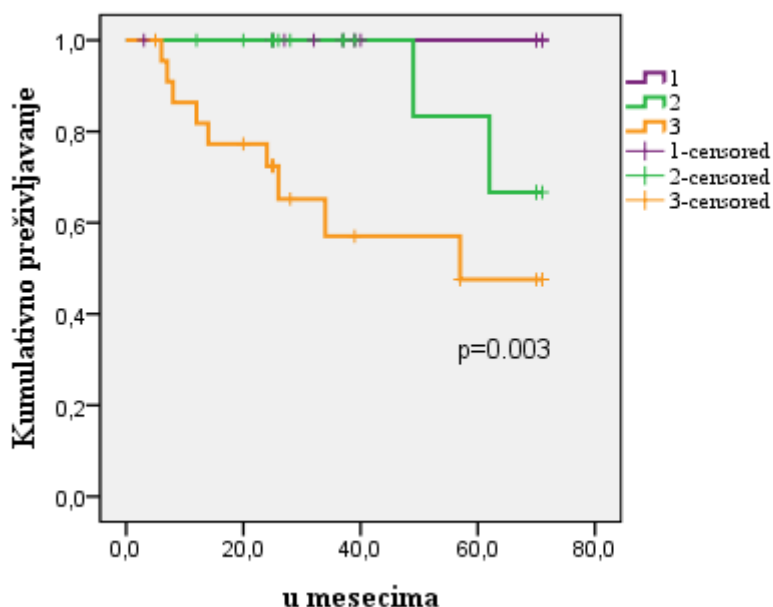
Tabela 49. Univarijantna Cox regresiona analiza faktora povezanih sa fatalnim i ne-fatalnim kardiovaskularnim dogadjajima

Varijable	Odds ratio	95% confidence intervals	p
Starost (godine)	1.138	1.055-1.226	0.001
Body mass index (kg/m²)	0.843	0.733-0.969	0.016
Sistolni KP (mmHg)	1.005	0.981-1.029	0.695
Hemoglobin (g/l)	0.938	0.900-0.977	0.002
Albumini (g/l)	0.938	0.855-1.029	0.178
Holesterol (mmol/l)	0.581	0.345-0.976	0.040
Kreatinin (mmol/l)	1.000	0.995-1.006	0.870
Urea (mmol/l)	1.095	0.988-1.214	0.084
Klirens kreatinina (ml/min)	0.788	0.691-0.899	0.000
LA (mm)	3.911	1.333-11.476	0.013
LVMI (g/m²)	1.017	1.007-1.028	0.001
EF Simpson (%)	1.063	0.990-1.142	0.093
E's (cm/s)	0.571	0.377-0.866	0.008
E's/A's	0.016	0.000-0.990	0.049
E/E's	1.173	1.061-1.297	0.002
E'l (cm/s)	0.665	0.521-0.850	0.001
E'l/A'l	0.037	0.002-0.790	0.035
E/E'l	1.285	1.112-1.486	0.001
DIM_{SR} (mm)	13.525	0.287-637.282	0.185
Valvularne kalcifikacije (%)	2.827	0.867-9.216	0.085
Aortne kalcifikacije (%)	2.756	0.895-8.484	0.077
Kalcifikovani plakovi (%)	2.537	0.695-9.260	0.159
lnCRP	1.062	0.689-1.636	0.786
TnI (ng/ml)	122.918	0.000-1.878E9	0.569
TnT (ng/ml)	22913.752	52.964-9913126.276	0.001
lnBNP	7.388	3.055-17.868	0.000
lnNT-proBNP	5.535	1.879-16.303	0.002

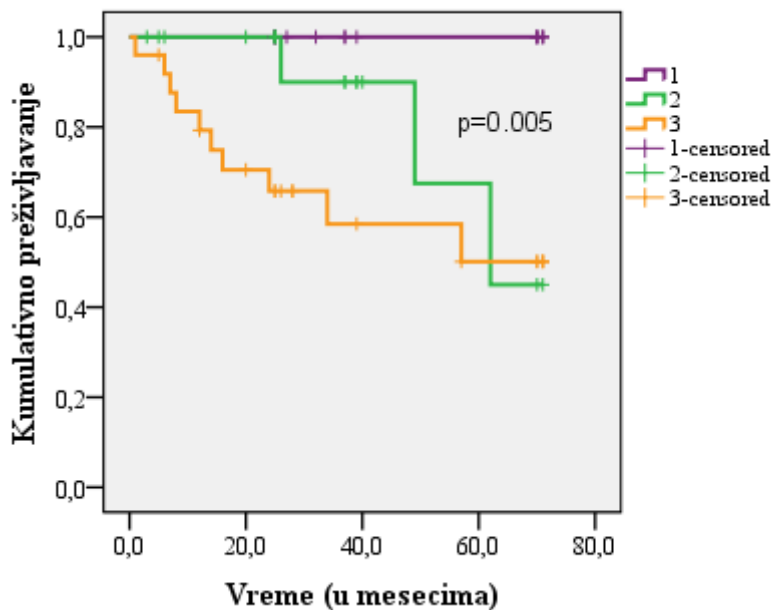
Tabela 50. Multivarijantna regresiona analiza faktora povezanih sa kardiovaskularnim dogadjajima

Varijable	B	SE	Wald	df	p	Exp (B)	95% CI
Starost (godine)	0.149	0.070	4.473	1	0.034	1.161	1.011-1.332
BMI (kg/m²)	-0.503	0.202	6.186	1	0.013	0.604	0.407-0.899
E'l/A'l	-10.034	3.695	7.375	1	0.007	0.000	0.000-0.061
ln BNP	2.866	0.896	10.233	1	0.001	17.560	3.034-101.640

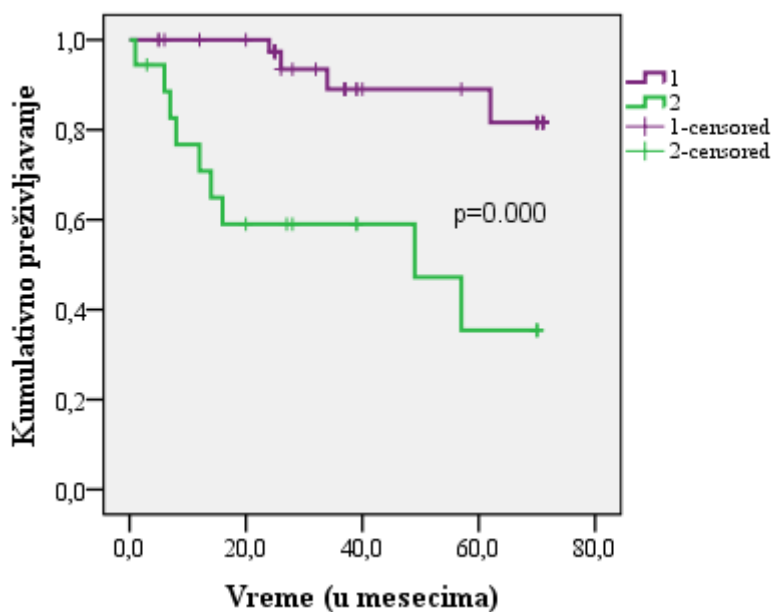
Vreme preživljavanja bez kardiovaskularnih događaja u odnosu na nivo kardijalnih biomarkera kod bubrežnih bolesnika prikazali smo Kaplan Meier-ovim krivama preživljavanja. Log rank test je pokazao značajnu razliku u preživljavanju bez kardiovaskularnih događaja između 3 grupe bolesnika koje su se razlikovale u odnosu na nivo BNP-a ($p < 0.01$). U grupi 1 sa vrednostima BNP-a ≤ 75.5 pg/ml ($n=17$) nije zabeležen nijedan kardiovaskularni događaj, u grupi 2 sa nivoom BNP-a od 75.6-169.9 pg ($n=17$) zabeležena su 2 događaja, a u grupi 3 sa nivoom BNP-a ≥ 170 pg/ml ($n=23$) zabeleženo je 9 događaja, grafikon 35. Između 3 grupe bolesnika sa različitim nivoima NT-proBNP-a takođe je utvrđena statistički značajna razlika: u grupi 1 sa nivoom NT-proBNP-a ≤ 400 pg/ml ($n=18$) nije bilo neželjenih kardiovaskularnih događaja, u grupi 2 sa nivoom NT-proBNP-a od 401-1200 pg/ml ($n=18$) registrovana su 3 događaja, a u grupi 3 sa nivoom NT-proBNP-a ≥ 1201 pg/ml ($n=25$) registrovano je 9 događaja ($p < 0.01$, log-rank test), grafikon 36. Stratifikovana analiza je pokazala statistički značajnu razliku u preživljavanju bez kardiovaskularnih događaja i između bolesnika koji su se razlikovali u odnosu na nivo TnT-a: u grupi 1 sa nivoom TnT-a < 0.1 ng/ml ($n=43$) evidentirana su 4 kardiovaskularna događaja, a u grupi 2 sa nivoom TnT-a ≥ 0.1 ng/ml ($n=18$) evidentirano je 9 takvih događaja ($p < 0.001$, log-rank test), grafikon 37.



Grafikon 35. Kaplan Meier-ova analiza preživljavanja bolesnika stratifikovanih prema tercilima BNP-a u odnosu na neželjene kardiovaskularne događaje

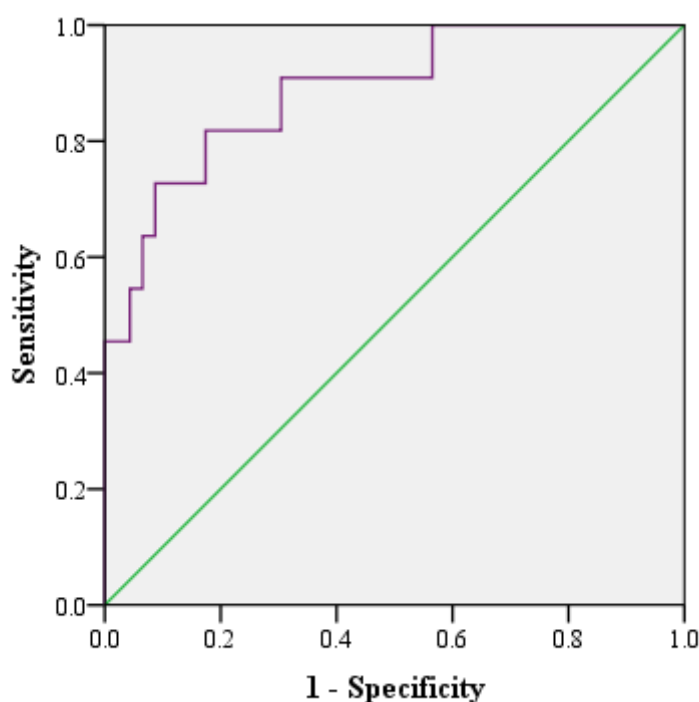


Grafikon 36. Kaplan Meier-ova analiza preživljavanja bolesnika stratifikovanih prema tertilima NT-proBNP-a u odnosu na neželjene kardiovaskularne događaje

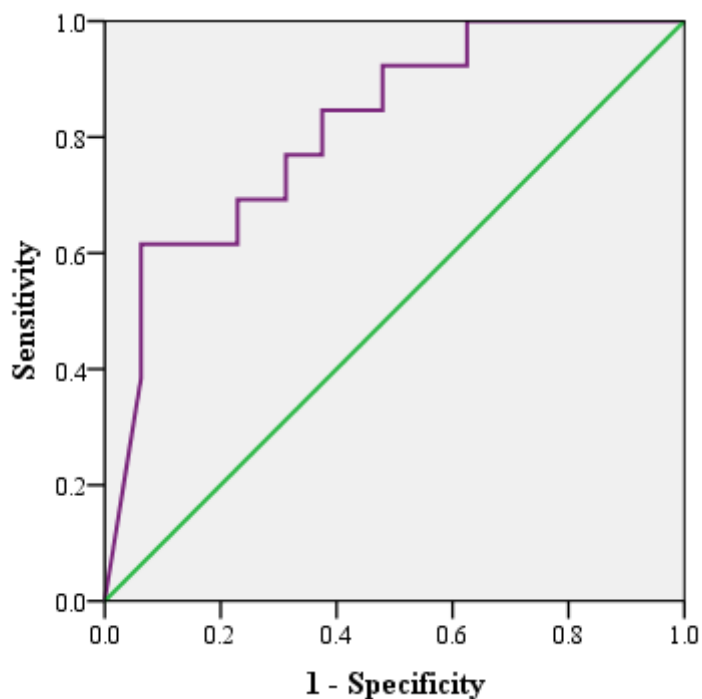


Grafikon 37. Kaplan Meier-ova analiza preživljavanja bolesnika stratifikovanih prema nivou TnT u odnosu na neželjene kardiovaskularne događaje

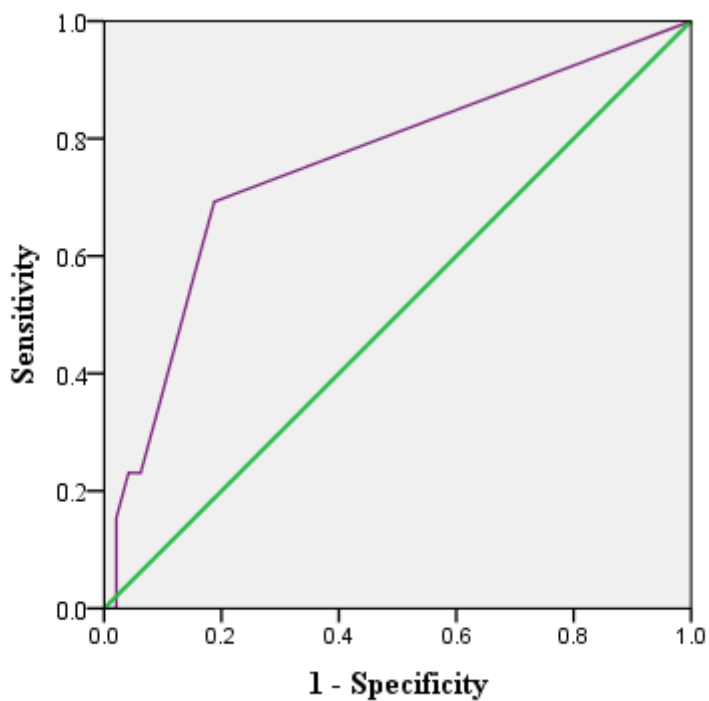
Da bi odredili cut off vrednosti BNP-a, NT-proBNP-a i TnT u predvidjanju neželjenih kardiovaskularnih dogodjaja analizirali smo njihove ROC krive. Za BNP dobijena je cut off vrednost 210 pg/ml sa senzitivnošću 81.8% i specifičnošću 80.4%. Površina pod krivom je bila AUC= 0.887, sa 95% intervalom poverenja 95% CI=0.777-0.998 i statističkom značajnošću $p=0.000$, grafikon 38. Izračunata cut-off vrednost za NT-proBNP iznosila je 1250 pg/ml, sa senzitivnošću 69.2% i specifičnošću 70.8% (AUC=0.818; 95%CI 0.693-0.943; $p=0.000$), grafikon 39. Prognozička vrednost TnT za neželjene kardiovaskularne dogodjaje se takodje pokazala značajnom ($p=0.005$; AUC 0.754; 95%CI: 0.593-0.915), pri čemu je dobijena cut off vrednost 0.05 ng/ml, sa senzitivnošću 69.2% i specifičnošću 81.3%, grafikon 40.



Grafikon 38. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za BNP u predvidjanju neželjenih kardiovaskularnih dogodjaja



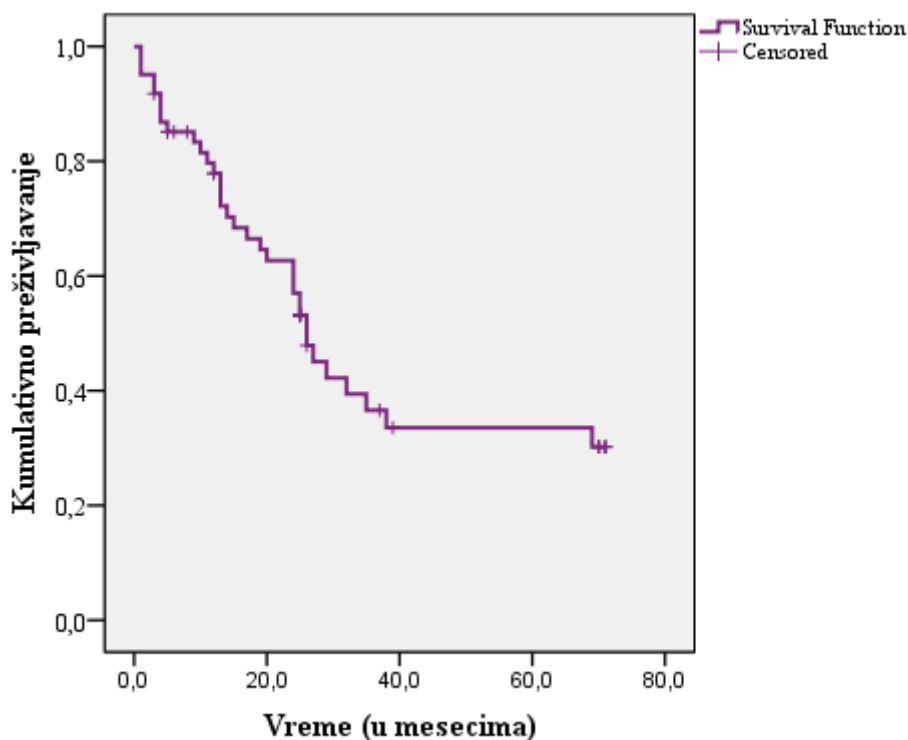
Grafikon 39. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za NT-proBNP u predviđanju neželjenih kardiovaskularnih događaja



Grafikon 40. ROC (*receiver operating characteristic*) kriva za TnT u predviđanju neželjenih kardiovaskularnih događaja

4.4.4. PREDIKTORI PROGRESIJE HRONIČNE BUBREŽNE BOLESTI

Tokom perioda praćenja bolesnika sa IV i V fazom HBB (n=61) kod 34 bolesnika došlo je do progresije HBB, definisane kao dupliranje serumskog kreatinina ili započinjanje lečenja dijalizom. Medijana preživljavanja je bila 26.0 meseci (95% CI: 21.3 – 30.7), a kumulativna stopa preživljavanja na kraju studije iznosila je 30.2%, grafikon 41. Univarijantnom Cox regresionom analizom identifikovani su pojedinačni prediktori značajni za progresiju HBB: hemoglobin (p=0.000), serumski kreatinin (p=0.000), urea (p=0.000), klirens kreatinina (p=0.006), nivo TnI (p=0.044), TnT (p=0.01) i lnNT-proBNP (p=0.023). Kada su ove varijable uključene u multivarijantni model Cox regresione analize, kao nezavisni prediktori progresije HBB izdvojili su se nivo Hb i serumskog kreatinina, tabela 51.



Grafikon 41. Preživljavanje bolesnika u odnosu na progresiju HBB

Tabela 51. Multivarijantna Cox regresiona analiza faktora značajnih u predviđanju progresije hronične bubrežne bolesti

Varijable	B	SE	Wald	df	p	Exp (B)	95% CI
Hemoglobin (<i>g/l</i>)	-0.036	0.013	7.141	1	0.008	0.965	0.940-0.991
Kreatinin (<i>mmol/l</i>)	0.006	0.002	11.589	1	0.001	1.006	1.003-1.010

5. DISKUSIJA

5.1. FAKTORI RIZIKA ZA RAZVOJ KARDIOVASKULARNIH BOLESTI

HBB se sve češće predstavlja širom sveta kao narastajući problem javnog zdravlja, udružen sa povećanim morbiditetom i mortalitetom čiji su glavni uzrok KVB (33, 303). Interakcija između HBB i KVB u povećanoj meri privlači pažnju istraživača naročito tokom poslednje decenije, jer je ustanovljeno da kratkoročni i dugoročni morbiditet i mortalitet bubrežnih bolesnika zavise uglavnom od prisustva ili odsustva KVB (304). Najčešći uzroci smrti u ovoj populaciji bolesnika su koronarna arterijska bolest, srčana insuficijencija i srčana aritmija (305). Ukupni i kardiovaskularni mortalitet počinje da se povećava sa opadanjem stope GFR ispod 60 ml/min/m^2 telesne površine (306), a rizik za kardiovaskularne događaje naglo raste pri vrednostima $\text{eGFR} \leq 45 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (33). Zbog toga se značajni naponi ulažu u otkrivanje novih metoda koje bi omogućile ranu detekciju uremičnih bolesnika sa povećanim kardiovaskularnim rizikom.

Ekscesivni kardiovaskularni rizik tokom razvoja HBB se delimično pripisuje visokoj prevalenciji tradicionalnih faktora rizika kao što su hipertenzija, *diabetes mellitus* ili dislipidemija, mada ovi faktori rizika pokazuju manje jasnu povezanost sa ishodom nego u opštoj populaciji. Takođe, paradoksalna povezanost između pojedinih tradicionalnih faktora rizika i kardiovaskularnog ishoda komplikuje napore u identifikaciji njihovog stvarnog doprinosa razvoju KVB. Hipertenzija je tako visoko zastupljena u HBB da ima mali diskriminišući potencijal, što je potvrđeno i u našoj studiji gde je registrovana kod 88,5% bubrežnih bolesnika. Rezultati drugih studija potvrđuju visoku prevalenciju hipertenzije u rasponu od 60% do 100%, zavisno od uzroka i težine HBB. Preporučuje se da krvni pritisak kod bolesnika sa HBB bude niži od 130/80 mmHg (77). Međutim, povezanost između krvnog pritiska i mortaliteta se grafički prikazuje „U“ krivom distribucije, iz koje se može zaključiti da su i vrednosti sistolnog krvnog pritiska više od 180 mmHg i vrednosti niže od 110 mmHg udružene sa povećanim mortalitetom (307).

Isti fenomen je uočen i u pogledu holesterola kao faktora rizika za KVB u terminalnoj fazi HBB. U opštoj populaciji, rizik od KVB se povećava sa povećanjem nivoa holesterola (308), dok su kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB i nizak i visok nivo holesterola povezani sa povećanim kardiovaskularnim mortalitetom (43, 48). Ova pojava može biti delimično posledica prisustva hronične inflamacije u HBB, koja

snižavajući nivo LDL-holesterola utiče na povezanost između holesterola i mortaliteta (309). U našoj grupi asimptomatskih bolesnika sa IV i V stadijumom HBB prosečni nivoi ukupnog holesterola, LDL- i HDL-holesterola nisu se statistički značajno razlikovali od nivoa zabeleženih u kontrolnoj grupi, za razliku od prosečnih vrednosti VLDL-holesterola i triglicerida koje su bile značajno više u bolesničkoj grupi. Ovi podaci su u skladu sa saznanjem da se glavna lipidna alteracija kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB odnosi na povećanje nivoa triglicerida, koje rezultira iz povećane produkcije triglicerida i VLDL holesterola, ali i smanjene aktivnosti lipoproteinske lipaze što dovodi do smanjenja klirensa triglicerida sa akumulacijom lipoproteina srednje gustine i lipoproteinskih ostataka (310).

Diabetes mellitus je vodeći uzrok terminalne faze HBB u razvijenim zemljama sveta, gde je zastupljen sa učestalošću od 40% među osnovnim uzrocima bolesti, a dokazano je da povećava kardiovaskularni rizik čak 50 do 300 puta (311). Iako je povećana incidencija koronarne bolesti važan faktor rizika, *diabetes* rezultira u funkcionalnim, biohemijskim i morfološkim kardiovaskularnim abnormalnostima nezavisno od ishemije (312). Stoga je razumljiva niska zastupljenost *diabetes mellitus*-a (6.6%) među našim asimptomatskim, predijalznim bolesnicima, bez preegzistentne KVB u ličnoj anamnezi.

U populaciji bolesnika sa HBB, netradicionalni faktori koji obuhvataju renalnu disfunkciju, anemiju, hiperfosfatemiju, retenciju tečnosti, malnutriciju, inflamaciju, oksidativni stres, hiperhomocisteinemiju i proteinuriju su takodje prevalentni i mogu povećati rizik od razvoja KVB. Naša grupa asimptomatskih bolesnika sa uznapredovalom HBB odlikovala se značajno nižim prosečnim vrednostima Hb i Hct u odnosu na kontrolnu grupu što ukazuje na veću učestalost anemije kao faktora rizika za razvoj kardiomiopatije (51). Prosečne vrednosti Ca su bile značajno niže, a prosečne vrednosti P, proizvoda CaxP i PTH značajno više u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi, što svedoči o prisustvu sekundarnog hiperparatireoidizma kao faktora rizika za vaskularne kalcifikacije i remodeliranje krvnih sudova (52). U bolesničkoj grupi su nivo fibrinogena, broj leukocita i brzina sedimentacije kao parametri inflamacije bili značajno viši nego u kontrolnoj grupi, iako su za studiju selektovani stabilni bolesnici bez simptoma i znakova aktuelne infekcije. Međutim, nutritivni status bolesnika sa

HBB i zdravih osoba iz kontrolne grupe procenjen nivoom albumina i vrednošću BMI nije pokazao statistički značajnu razliku između 2 grupe. Dok povećani BMI povećava kardiovaskularni rizik u opštoj populaciji, gojaznost ima protektivni efekat u odnosu na KVB kod bubrežnih bolesnika (313). Identifikacija svih ovih faktora rizika, tradicionalnih i netradicionalnih, uz razvijanje preventivnih i interventnih strategija je inicijalni i suštinski korak u vodjenju bolesnika sa HBB.

U bazičnoj publikaciji Lindnera i saradnika iz 1974. godine je prvi put dokazano da su bolesnici na hroničnoj terapiji zamene renalne funkcije izloženi KV problemima usled ubrzane i teške ateromatoze (21). Iako je odavno prihvaćeno da je visoka stopa kardiovaskularnog mortaliteta uglavnom posledica akceleratne ateroskleroze, kasnije publikovani radovi su ukazali da je samo 30-50% svih srčanih smrti bolesnika sa HBB izazvano infarktom miokarda. Sa druge strane, čak 30-40% svih bolesnika sa HBB, anginom pectoris i elektrokardiografski dokumentovanom ishemijom ima normalne koronarne arterije. Ove činjenice su ukazale da kod bolesnika sa HBB nezavisno od ateroskleroze postoje i druge abnormalnosti koje dovode do ishemije miokarda (314). Sa napredovanjem bubrežne slabosti se razvija opterećenje volumenom i pritiskom, koje dovodi do maladaptivnog remodeliranja leve komore (HLK) i srčane insuficijencije. Srčana insuficijencija uključuje sistolnu i dijastolnu disfunkciju, ali takodje ima jedinstvene karakteristike povezane sa uremijom (28, 294, 315). Smatra se da uremijska kardiomiopatija vodi disproporciji između miocita i kapilara, sa smanjenjem vaskularnog snabdevanja u odnosu na broj i volumen funkcionalnih miocita (316-318). Mikrovaskularna bolest se karakteriše zadebljanjem zida arteriola, smanjenjem gustine kapilarne mreže i poremećajem vazomotornog tonusa sa tendencijom preovladavanja vazokonstrikcije (318-319). Okruženje siromašno kiseonikom može voditi difuznoj ishemiji miokarda sa prelaskom predominantno aerobnog metabolizma zasnovanog na utilizaciji masnih kiselina na anaerobni metabolizam sa utilizacijom glukoze kao izvora energije (320-322). Ova patološka transformacija koja podstiče fibrozu miokarda najočiglednija je u terminalnom stadijumu HBB kada je udružena sa ekscesivnim mortalitetom, ali se verovatno razvija već u ranim fazama hronične bubrežne slabosti (323).

5.2. KARDIOVASKULARNI STATUS BUBREŽNIH BOLESNIKA

Brojni dijagnostički modaliteti, invazivni i neinvazivni, mogu se koristiti u detekciji KVB kod bolesnika sa HBB. Skrining metode su često skupe, ponekad su manje pristupačne zbog postojećih listi čekanja i imaju izvesna ograničenja kako u opštoj populaciji, tako i u populaciji bubrežnih bolesnika. Kada je reč o skriningu asimptomatskih bolesnika u predijaliznoj fazi HBB, razmatraju se neinvazivne metode koje bi pružile osnovne informacije o kardiovaskularnom statusu i selektovale podgrupe rizičnih bolesnika kao kandidate za agresivnija ispitivanja i sprovođenje preventivnih i terapijskih strategija. EKG abnormalnosti se nalaze u preko polovine bolesnika sa HBB zbog kardiomiopatije, koronarne bolesti, mikrovaskularne bolesti, aritmija i elektrolitnog disbalansa (324). Ehokardiografija igra ključnu ulogu u evaluaciji bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB, a nalazi koje sugerišu potrebu za daljim istraživanjima i tretmanom su: pogoršana sistolna funkcija leve komore, hipertrofija i dilatacija leve komore, značajna dijastolna disfunkcija leve komore i mitralne anularne kalcifikacije (305). Srčani troponini TnI i TnT, natriuretski peptidi BNP i NT-proBNP, visokosenzitivni CRP, ishemijom modifikovani albumin i ADMA su povišeni kod značajnog broja bolesnika sa HBB, povezani su sa mortalitetom i smatraju se markerima kardijalne bolesti (7, 15, 18, 162, 324). Međutim, ne postoje klinički dokazi da rane intervencije zasnovane na koncentracijama biomarkera menjaju prognozu bolesnika u terminalnom stadijumu bubrežne slabosti. Potrebno je još dokaza da bi se ovi biomarkeri mogli preporučiti za rutinski skrining bolesnika sa uznapredovalom HBB.

5.2.1. HIPERTROFIJA LEVE KOMORE

LVH je najsnažniji pojedinačni nezavisni prediktor neželjenih KV događaja (75) i istovremeno je najčešći ehokardiografski nalaz u uremičnih bolesnika. Poreklo LVH u uremiji je multifaktorijalno. Patofiziološki faktori obuhvataju opterećenje pritiskom, opterećenje volumenom i faktore povezane sa uremijom. Na početku, LVH može biti kompenzatorni proces koji omogućava levoj komori da proizvodnjom dodatne energije poveća srčani rad i održi konstantni nivo istegnutosti komorskog zida. Međutim, kako bolest progredira, pojavljuju se strukturne promene u miokardu kao što su akumulacija

kolagena, hipertrofija i smrt miocita, dovodeći do intersticijalne fibroze miokarda (57). Ova konstelacija maladaptivnih događaja može rezultirati u manifestnoj dijastolnoj disfunkciji, ili čak opasnijoj sistolnoj insuficijenciji.

Prema istraživanjima Foley-a i saradnika sprovedenim u grupi od 433 bolesnika sa terminalnom fazom HBB, prevalencija LVH na početku dijaliznog lečenja bila je 74% (28). Ovi podaci su saglasni sa rezultatima drugih autora, koji za grupu bolesnika sa terminalnom fazom HBB u različitim studijama navode prevalenciju LVH koja se uglavnom nalazi u rasponu od 40 do 80%. Tako je prema nalazima Raj-a i saradnika, učestalost LVH u nedijaliziranoj grupi bubrežnih bolesnika bila 45.7%, a u grupi bolesnika koji zahtevaju lečenje ponavljanim dijalizama 76.5% (325).

Bolesnici sa IV i V fazom HBB uključeni u našu studiju imali su značajno veće prosečne vrednosti ehokardiografskih strukturnih parametara u odnosu na kontrolnu grupu (LA, PWTd, IVSTd, RWT, LVmass i LVMI), dok je LVH prema definisanim kriterijumima bila zastupljena sa 91.8 %. U kontrolnoj grupi zastupljenost LVH je bila 68,2%, u grupi bolesnika sa IV stadijumom HBB 83,9%, a u grupi bolesnika sa V stadijumom HBB 100%, što čini statistički značajnu razliku ($p=0.001$). Slične rezultate nalazimo kod još nekih autora: Dangri sa saradnicima je zabeležio učestalost LVH od 40% u grupi bolesnika sa blagom do umerenom HBB (s-kreatinin 1.5 do 6 mg/dl), dok je učestalost LVH u grupi bolesnika sa teškom HBB (s-kreatinin > 6 mg/dl) iznosila 97% (326). U nedavno publikovanoj studiji, Sambi i saradnici su opservirali LVH kod 64% bolesnika u grupi čiji je s-kreatinin bio niži od 6 mg/dl, a kod 96% bolesnika sa teškom HBB, čiji je s-kreatinin bio viši od 6 mg/dl (327).

I druge opservacione studije sprovedene u grupama bolesnika pre početka dijaliznog lečenja su potvrdile da se težina i prevalencija LVH povećavaju sa svakom fazom HBB. Ispitujući determinante LVH i sistolne disfunkcije kod bolesnika sa različitim stepenom renalne disfunkcije, Greaves i saradnici su otkrili da su debljina zida i dimenzije leve komore najveće kod dijaliznih bolesnika, intermedijarne kod bolesnika sa HBB i najniže u kontrolnoj grupi (328). Levin i saradnici su određivali LVMI u populaciji od 115 muškaraca i 60 žena sa prosečnim CCr od 25.5 ± 17 ml/min dvodomenzionalnom M-mode ehokardiografijom. Populacija je bila stratifikovana u 3 grupe prema nivou bubrežne funkcije. Prevalencija LVH bila je 26.7% kod bolesnika sa CCr > 50 ml/min,

30.8% kod onih sa CCr između 25 i 49 ml/min i 45.2% kod bolesnika čiji je CrCl < 25 ml/min (29). Tucker i saradnici su saopštili slične nalaze u grupi od 85 bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom. Služeći se istim ehokardiografskim tehnikama, kao i komparabilnim kriterijumima za dijagnozu LVH, ovi istraživači su utvrdili da je prevalencija LVH 16% kod bolesnika sa CCr > 30 ml/min i 38% kod onih sa CCr < 30 ml/min (329). Veliki raspon u kome se beleži prevalencija ventrikularne hipertrofije kod bolesnika u predijaliznoj fazi LVH može se objasniti različitom zastupljenošću pojedinih faktora rizika koji su povezani sa patogenetskim mehanizmima razvoja LVH, kao što su starost, trajanje hipertenzije i uspešnost njenog lečenja, težina anemije, nivo holesterola, CRP-a, albumina, serumskog fosfora, serumskog kalcijuma, GFR (330-331), ali i različitim ehokardiografskim tehnikama i kriterijumima koji su korišćeni u definisanju LVH.

U našoj studiji, koncentrična LVH je nadjena kod približno 33.1 % bolesnika, dok je 55.7 % imalo ekscentričnu hipertrofiju. Ovakvi nalazi podržavaju rezultate Huting-a i saradnika koji su prateći grupu od 61 normotenzivnog bolesnika sa terminalnom fazom HBB tokom perioda od 2,5 godine zaključili da je ekscentrična hipertrofija predominantni oblik LVH u HBB (332). Među bolesnicima sa ranom fazom HBB i LVH, 65% je imalo ekscentričnu LVH (15). Međutim, rezultati do kojih su došli drugi autori nisu konzistentni: u jednoj studiji Foley-a i saradnika, od 74% bolesnika koji su na početku dijaliznog lečenja imali LVH, 44.3% je imalo karakteristike koncentrične, a 29.6% karakteristike ekscentrične hipertrofije (28). Slične rezultate prospektivne studije koja je takodje obuhvatila bolesnike sa terminalnom fazom HBB na početku hroničnog dijaliznog tretmana, objavio je Parfrey sa saradnicima (333). Prema saopštenju Dangrija i saradnika, odnos koncentrične prema ekscentričnoj LVH bio je 37% vs 3% u blagoj do umerenoj HBB, odnosno 87% vs 10% u terminalnoj fazi HBB (324). Sa druge strane, studija Londona i saradnika sugeriše da LVH u HBB kombinuje karakteristike koncentrične i ekscentrične hipertrofije (65). Ekscentrična LVH se češće razvija pod uticajem faktora koji su udruženi sa renalnom insuficijencijom (GFR, anemija, hiperfosfatemija, hipokalcemija), dok je koncentrična LVH češće udružena sa visokim vrednostima sistolnog krvnog pritiska (331).

5.2.2. SISTOLNA FUNKCIJA LEVE KOMORE

U našim rezultatima nije zabeležena statistički značajna razlika između konvencionalnih ehosonografskih indeksa sistolne funkcije (EF i FS) u bolesničkoj i kontrolnoj grupi. Sistolna disfunkcija definisana kao EF <55% zabeležena je kod 12 (19.7%) bolesnika, dok je FS ≤25% zabeležena kod 4 (6.5%) bolesnika. Ovi nalazi su očekivani, jer su prema rezultatima dosadašnjih istraživanja indeksi sistolne funkcije obično normalni ili čak lako povećani kod bolesnika sa terminalnom fazom HBB bez preegzistentnog srčanog oboljenja (57). Posledično, naši rezultati su saglasni sa rezultatima koje su objavili drugi autori (294, 334-335). Održavanje sistolne funkcije na normalnom nivou se objašnjava pomoću nekoliko mehanizama koji uključuju povećani pritisak punjenja leve komore, povećanu simpatičku aktivnost i prisustvo jedne ili više supstanci u serumu uremičara koji inhibicijom Na pumpe povećavaju snagu mišićne kontrakcije. Ove supstance takodje usporavaju oporavak koncentracije kalcijuma u kardiomiocitima, što pogoršava relaksaciju miocita i dijastolno punjenje, pa se kod bolesnika sa bubrežnom slabošću smatraju odgovornim za olakšani nastanak akutne dijastolne disfunkcije u uslovima blago povećanog volumena leve komore (336).

Iako su dosad razvijeni brojni indeksi kontraktilnosti, svaki od njih ima neke nedostatke. Najčešće korišćeni ultrazvučni indeks sistolne funkcije u kliničkoj praksi je EF, pošto je laka za primenu i razumevanje; međjutim, kada je istovremeno prisutna LVH, EF prestaje da bude pouzdani parametar sistolne funkcije. Animalne i humane studije su nedavno pokazale da se pomoću TDI može prikazati abnormalna kontraktilnost i u patološkoj LVH, u uslovima kada je konvencionalna ehokardiografija nemoćna da detektuje funkcionalne abnormalnosti. Naši rezultati su takodje pokazali da je tkivna brzina septalnog dela mitralnog anulusa u sistoli (V's) statistički značajno niža u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi (p <0.05). Hayashi i saradnici su svojim istraživanjima potvrdili da TDI otkriva poremećaje kontraktilnosti i kontrakcije kod bubrežnih bolesnika koji imaju LVH i normalnu ejectionu frakciju izračunatu konvencionalnom tehnikom merenja. Oni su takodje sugerisali da geometrija leve komore može uticati na sistolnu funkciju, jer su zapazili da je ekscentrična hipertrofija češće udružena sa sistolnom disfunkcijom nego koncentrična (294). Istražujući relativni doprinos ventrikularnog remodeliranja i miokardne disfunkcije razvoju srčane

insuficijencije u LVH izazvanoj pritiskom, Norton i saradnici su potvrdili da je remodeliranje leve komore glavni doprinoseći činilac procesu dekompenzacije i da progresivne izmene volumena i oblika leve komore u sklopu ekscentričnog remodeliranja predstavljaju značajnu mehaničku smetnju koja vremenom dovodi do pogoršanja pumpne funkcije (334). Paoletti i saradnici su dodatno pokazali da je u populaciji bubrežnih bolesnika ekscentrična LVH bila udružena sa većom incidencijom neželjenih KV događaja (335).

5.2.3. DIJASTOLNA FUNKCIJA LEVE KOMORE

Punjenje leve komore tokom dijastole je ključna faza srčanog ciklusa koja determiniše minutni volumen srca i pritisak punjenja. Obuhvata 3 koraka: 1) brzo punjenje u ranoj dijastoli nakon aktivne relaksacije leve komore: kada se mitralna valvula otvori, leva komora se brzo puni i brzina punjenja zavisi od gradijenta atrioventrikularnog pritiska preko mitralnog ušća; 2) atrijalna sistola je aktivni end-dijastolni fenomen odgovoran za 30% komorskog punjenja u osoba ispod 50 godina starosti i za 70% i više, u osoba preko 80 godina; 3) dijastaza, interponirana između ova 2 koraka. Dva mehanizma mogu biti odgovorna za dijastolnu disfunkciju: poremećena relaksacija i izmenjena komplijansa. Do poremećaja relaksacije najčešće dovode: ishemija miokarda, blok grane, sistemska hipertenzija, kontraktilna disfunkcija i LVH. Za smanjenu komplijansu, takodje su odgovorna različita patološka stanja: koncentrično remodeliranje leve komore (usled hipertenzije, aortne stenoze ili smanjene rastegljivosti čitavog arterijskog stabla u starijih), primarna hipertrofična kardiomiopatija, kompresija leve komore uvećanom desnom komorom ili velikim perikardnim izlivom, ishemija, infiltracija ili edem (336).

Rezultati našeg istraživanja ukazali su da je dijastolna funkcija procenjena pomoću parametara tkivnog Doppler-a u značajnoj meri poremećena kod asimptomatskih bolesnika sa IV i V fazom HBB. Parametri dijastolne funkcije čije su se prosečne vrednosti statistički značajno razlikovale između bolesničke i kontrolne grupe bili su: E's ($p < 0.001$), E'l ($p < 0.05$), odnos E/E' (izmeren septalno, lateralno i prosečna vrednost, $p < 0.001$) i Vp ($p < 0.01$). Parametri transmitralnog Doppler-a nisu pokazali značajnu diskriminativnu sposobnost u detekciji poremećene dijastolne relaksacije. Vrednosti E/A < 1 izmerene su kod 46 (75.4%) bolesnika i 15 (68.2%) ispitanika iz

kontrolne grupe, a u prosečnim vrednostima ovog parametra između 2 grupe nije zabeležena statistički značajna razlika. Odnos E/E_a' u rasponu od 9-13 nadjen je kod 8 (13.1%) bolesnika, a ≥ 13 kod 6 (9.8%) bolesnika, dok je u kontrolnoj grupi samo 1 (4.5%) ispitanik imao E/E_a' između 9 i 13. $E's < 8$ izmeren je kod 60.6% ispitanika iz bolesničke grupe i 27.3% ispitanika iz kontrolne grupe, a $V_p < 50$ izmerena je kod 91.8% ispitanika iz bolesničke i 77.3% iz kontrolne grupe.

Dijastolna disfunkcija je funkcionalna abnormalnost koja se prva registruje kod bolesnika sa HBB bez klinički izražene KV simptomatologije. Parametri dijastolne funkcije su izmenjeni kod bubrežnih bolesnika davno pre terminalnog stadijuma, što je potvrdilo i nedavno istraživanje o KV remodeliranju i višku ekstracelularne tečnosti koje su Essig i saradnici sprovedi u grupi od 104 bolesnika sa drugom, trećom i četvrtom fazom HBB. Izmenjena dijastolna funkcija je nadjena već kod bolesnika sa GFR 60–30 ml/min/1.73 m² (III faza) i prezentovala se značajno nižim prosečnim vrednostima E' , a višim vrednostima DT i IVRT. Prosečne vrednosti odnosa E/E' pokazale su tendenciju rasta kroz kontinuum postepenog opadanja bubrežne funkcije, dok je sistolna funkcija još uvek bila neizmenjena (337). U našem istraživanju, vrednosti $E's$ ($p < 0.001$) i V_p ($p < 0.01$) su se značajno razlikovale između ispitanika sa normalnom bubrežnom funkcijom, grupe sa IV i grupe sa V stadijumom HBB, ukazujući na tendenciju postepenog pogoršanja dijastolne funkcije sa sniženjem vrednosti GFR.

Istraživanja drugih autora u grupi predijaliznih bolesnika sa HBB su pokazala slične rezultate. Hayashi i saradnici su upoređivali procenu funkcije leve komore pomoću tehnike tkivnog Doppler-a i konvencionalne ehokardiografije, takodje u grupi bolesnika sa različitim fazama HBB: 22 bolesnika sa blagom/umerenom HBB (Grupa 1 - $CCr > 29$ ml/min) i 18 sa teškom HBB (Grupa 2 - $CCr \leq 29$ ml/min). U grupi 2 zabeležene su značajno niže vrednosti E' , a više vrednosti IVRT nego u kontrolnoj grupi, što ukazuje da se izraženija dijastolna disfunkcija javlja kod bolesnika sa teškom HBB. Povećani pritisak punjenja leve komore ($E/E' > 15$) bio je prisutan kod 3 bolesnika u grupi 1 i kod 3 bolesnika u grupi 2. Kada je za definisanje dijastolne disfunkcije upotrebljen kriterijum $E' < 8$ cm/sec, pokazalo se da je tehnika tkivnog Doppler-a senzitivnija od konvencionalne ehokardiografije u detekciji dijastolne disfunkcije (33 vs. 26 bolesnika, $p < 0.05$) (294).

Ranije je funkcija miokarda ekstenzivno proučavana pomoću konvencionalne ehokardiografije. Ovaj metod procenjuje hidrodinamske odgovore i stoga je zavisn od volumnog opterećenja, što kompromituje njegovu upotrebljivost kod bolesnika sa HBB kod kojih status tečnosti naročito u uznapređevaloj fazi može značajno varirati. Pored toga, konvencionalna ehokardiografija dozvoljava samo semikvantitativna i delimično subjektivna merenja. Dalje se pokazalo da je ova metoda nedovoljno osetljiva da razlikuje fiziološku od patološke LVH i da detektuje dijastolnu disfunkciju kod bolesnika sa LVH i normalnom ejectionom frakcijom (296).

Nasuprot konvencionalnoj ehokardiografiji, TDI je objektivna i kvantitativna ehokardiografska tehnika za procenu tkivne funkcije miokarda. TDI prati direktno mehaničku funkciju zida, koja izaziva hidrodinamske odgovore. TDI merenja regionalnih brzina miokarda dozvoljavaju istovremenu procenu sistolne (izovolumetrijska i ejectiona faza) i dijastolne funkcije, vremenskih intervala i pritisaka punjenja leve komore. Studije su pokazale da TDI parametri sistolne funkcije dobro koreliraju sa globalnom ejectionom frakcijom LV i invazivnim merenjima kontrakcije (faza ejectione) i kontraktilnosti LV (izovolumetrijska kontrakcija) (338). Dalje se ispostavilo da TDI parametri dijastolne funkcije koreliraju direktno sa vremenskom konstantom relaksacije LV (339), a inverzno sa volumenima i pritiscima LV dobijenim invazivnim merenjima (340). Takodje se pokazalo da TDI poboljšava procenu pacijenata sa HLK, pošto je senzitivniji u detekciji abnormalne relaksacije LV od konvencionalne ehokardiografije. Prihvaćeno je da su TDI parametri sistolne i dijastolne funkcije manje zavisni od opterećenja nego parametri procenjeni konvencionalnom ehokardiografijom, što ukazuje da TDI može biti adekvatniji metod za kardiološku procenu bolesnika sa HBB (341).

Rezultati koje smo dobili u našem istraživanju takodje podržavaju stav da je TDI u poredjenju sa konvencionalnom ehokardiografijom senzitivniji metod za detekciju dijastolne disfunkcije LV kod bolesnika u predijaliznoj fazi HBB.

5.2.4. VALVULARNE KALCIFIKACIJE

Kalcifikacije miokarda, koronarnih arterija i srčanih valvula su često prisutne kod bolesnika u terminalnoj fazi HBB. Kalcifikacije valvula kod ovih bolesnika ne samo da

predstavljaju rizik za nastanak stenozne valvula, povećavaju rizik od pojave infektivnog endokarditisa, hipertrofije leve komore i srčane slabosti, već su i nezavisni prediktor kardiovaskularnog mortaliteta (342). Ehokardiografija je zlatni standard za procenu morfologije i funkcije srčanih valvula, neinvazivna je i relativno jeftina. Ehokardiografskim pregledom se kalcifikacije srčanih zalistaka kod dijaliznih bolesnika nalaze sa prevalencijom koja je četiri do pet puta viša nego u opštoj populaciji, ali je manje dostupnih podataka o učestalosti valvularnih kalcifikacija u ranijim fazama HBB.

Rezultati našeg istraživanja ukazuju da je prisustvo kalcifikacija na mitralnim i aortnim zaliscima značajno češće u grupi bolesnika sa IV i V fazom HBB, nego u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika. Zastupljenost kalcifikacija mitralnih valvula u bolesničkoj grupi bila je 31.1% prema 0% u kontrolnoj grupi ($p=0.003$), dok je zastupljenost kalcifikacija aortnih valvula u bolesničkoj grupi bila 41% prema 9.1% u kontrolnoj grupi ($p<0.01$). Ribeiro i saradnici su saopštili da je u njihovoj studiji prevalencija mitralnih kalcifikacija bila 44.5%, a aortnih kalcifikacija 52% kod bolesnika na hroničnoj HD u odnosu na 10% mitralnih i 4,3% aortnih kalcifikacija vidjenih kod ispitanika sa normalnom bubrežnom funkcijom ($p=0.02$ vs. $p=0.01$). U istoj studiji, mitralne i aortne kalcifikacije su bile značajno udružene sa perifernim arterijskim kalcifikacijama i poremećajima mineralnog metabolizma (343). Ehokardiografskom procenom 144 bolesnika koji se leče ponavljanim hemodijalizama, Raggi i saradnici su došli do sličnih rezultata: 38.2% bolesnika je imalo kalcifikacije mitralnih zalistaka, a 44.4% kalcifikacije aortnih zalistaka, i pri tom je dokazano da su valvularne kalcifikacije kod ovih bolesnika udružene sa značajno povećanim rizikom ukupnog mortaliteta (344). Koristeći *electron beam* kompjuterizovanu tomografiju u proceni, Braun i saradnici su pronašli još veću učestalost valvularnih kalcifikacija kod bolesnika na HD, 55% aortnih i 59% mitralnih kalcifikacija (345).

U našoj studiji je takodje prikazana razlika u učestalosti valvularnih kalcifikacija između 3 grupe bolesnika sa različitim nivoom renalne funkcije. Kalcifikacije mitralnih zalistaka nisu vidjene u kontrolnoj grupi, ali su bile prisutne kod 8 (25.8%) bolesnika sa IV stadijumom HBB i kod 11 (36.7%) bolesnika sa V stadijumom HBB ($p=0.007$). Kalcifikacije aortnih zalistaka su zabeležene kod 2 (9.1%) ispitanika iz kontrolne grupe, kod 11 (35.5%) bolesnika u IV stadijumu HBB i kod 14 (46.7%) bolesnika u V

stadijumu HBB ($p=0.015$). Slične razlike u odnosu na nivo bubrežne funkcije su izložene u radu Leskinena i saradnika, koji su transtorakalnom ehokardiografijom ispitivali učestalost valvularnih kalcifikacija između 4 grupe ispitanika i njihovu povezanost sa aterosklerozom. Kombinovana prevalencija mitralnih i aortnih kalcifikacija je iznosila 31% u predijaliznih bolesnika, 50% u dijaliznih, 29% u transplantiranih i 12% u kontrolnoj grupi, a valvularne kalcifikacije su bile usko povezane sa DIM, karotidnim plakovima, kalcifikovanim karotidnim plakovima, koronarnom bolešću i perifernom arterijskom bolešću (346). U grupi bolesnika sa umerenom HBB ($eGFR < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$, 97% učesnika u III stadijumu HBB), *electron-beam* ili *multi-detector row* kompjuterizovanom tomografijom je otkriveno 25% bolesnika sa kalcifikacijama aortne valvule i 20% sa kalcifikacijama mitralne valvule (347). Navedeni podaci podržavaju teoriju o povezanosti težine valvularnih kalcifikacija i stepena renalne disfunkcije, iako su i dalje potrebne prospektivne longitudinalne studije za dokazivanje takve povezanosti.

Dosadašnja saznanja ukazuju da isti patogenetski mehanizmi i faktori rizika učestvuju u nastanku valvularnih i vaskularnih kalcifikacija. Mada je u opštoj populaciji sa aterosklerotičnom bolešću opisana infiltracija aortnih valvula lipidima i inflamatornim ćelijama (348), kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom bolešću u razvoj valvularnih kalcifikacija se uključuju i poremećaji mineralnog metabolizma. U skladu sa tim, dokazano je da progresija valvularnih kalcifikacija može biti usporena intervencijama koje menjaju metabolizam Ca, P i PTH kod bolesnika na HD (349-350). Za opserviranu povezanost između HBB i valvularnih kalcifikacija predloženo je nekoliko uzročnih mehanizama. Prema jednoj hipotezi, iz renalne disfunkcije proizilaze brojni intermedijerni faktori kao što su inflamacija, hipertenzija ili disregulacija mineralnog metabolizma čijim se međusobnim delovanjem može objasniti visoka učestalost valvularnih kalcifikacija u HBB. Međutim, povećani rizik kalcifikacija može biti uslovljen i kumulativnim efektom nemeranih ili nekompletno merenih KV faktora rizika koji se akumuliraju sa pogoršanjem renalne funkcije i mogu odražavati zajednički osnovni patološki proces kao što je ateroskleroza (351). U publikaciji Wang-a i saradnika, ukupni i kardiovaskularni mortalitet bolesnika na peritoneumskoj dijalizi nije se značajno razlikovao u odnosu na to da li su oni imali valvularne kalcifikacije ili aterosklerotičnu vaskularnu bolest, što govori u prilog hipotezi da valvularne

kalcifikacije predstavljaju marker sistemske KVB (352). U drugoj publikaciji, ista grupa je pokazala interakciju između nivoa fetuina-A, malnutricije, inflamacije, ateroskleroze i valvularnih kalcifikacija u izazivanju neželjenog ishoda kod bolesnika na peritoneumskoj dijalizi (353).

Potrebna su dalja istraživanja da bi se razjasnilo u kojoj meri su opterećenje tradicionalnim faktorima rizika i/ili specifični faktori rizika kao što su metabolički deranžmani prisutni već u ranim fazama hronične bubrežne slabosti, odgovorni za povezanost stepena HBB i rasprostranjenosti valvularnih kalcifikacija.

5.2.5. VASKULARNI STATUS

Uvodjenjem B-mode ultrasonografije sa visokom rezolucijom u kliničku praksu, dobijen je pouzdan, reproducibilan i neinvazivni metod za detekciju i praćenje progresije pre-kliničke ateroskleroze. Pignoli i saradnici su prvi put primenili ovaj metod za merenje DIM 1986. godine (354), a od tada su brojne studije pokazale da su DIM i aterosklerotični plakovi u velikim arterijama dobri markeri generalizovane ateroskleroze (355-357). Tokom godina je ultrasonografija karotidnih arterija utemeljena kao osnovna tehnika za neinvazivno istraživanje ateroskleroze u opštoj populaciji (358), kao i kod bolesnika na HD (359). Dokazano je da su DIM i pojava plakova u karotidnim arterijama snažni prediktori za kardiovaskularne događaje u opštoj populaciji (360) i da su nezavisni prediktori kardiovaskularnog mortaliteta kod bolesnika na HD (359). Međutim, manje je dostupnih saznanja o asimptomatskoj aterosklerozi kod bolesnika sa različitim stadijumima HBB pre početka lečenja nekom od metoda za zamenu bubrežne funkcije.

Naša studija je pokazala da je DIM značajno viša kod predijaliznih asimptomatskih bolesnika sa HBB u poredjenju sa zdravim osobama, srodnim po starosti i polu. Merenjem DIM kao markera prekliničke ateroskleroze u našoj grupi bolesnika sa IV i V fazom HBB, izračunata je srednja vrednost za obe karotidne arterije (0.88 ± 0.17 mm), koja se statistički visoko značajno razlikovala ($p < 0.001$) u odnosu na srednju vrednost DIM dobijenu u kontrolnoj grupi (0.72 ± 0.14 mm). Ovaj nalaz je u skladu sa rezultatima prethodnih studija, koje izveštavaju o širokom rasponu DIM od 0.6 do 2 mm kod bolesnika sa HBB (361-364). Metodološke slabosti, kao što je odsustvo dobro uparenih

kontrolnih grupa sa zdravim ispitanicima, greške u očitavanju DIM, ili mala veličina uzorka, mogu objasniti ovu heterogenost. Pored toga, treba imati u vidu da uprkos značajnoj progresiji koja je učinjena prethodnih godina u prepoznavanju patofiziologije ateroskleroze, egzaktni mehanizam još uvek nije u potpunosti rasvetljen. Patogenetska uloga se pripisuje tradicionalnim faktorima rizika kao što su hipertenzija, hiperlipidemija, pušenje, starost, LVH, kao i netradicionalnim faktorima rizika koji obuhvataju uremiju, anemiju, hiperparatireoidizam, hiperhomocistinemiju, povećani oksidativni stres i stanje mikroinflamacije (38-40, 43-44, 48-50). Medjutim, još uvek ne postoje dobro kontrolisane, metodološki prikladne studije sa dovoljnom veličinom uzorka, koje bi istraživale ulogu svih ovih parametara zajedno.

Nakon objavljivanja hipoteze o akceleratornoj aterosklerozi kod bolesnika na HD (21), pokazalo se da je bubrežna insuficijencija značajan i nezavisan faktor rizika za karotidnu aterosklerozu, koja *per se* ubrzava aterosklerotski proces (365). Merenjem vrednosti karotidne DIM u grupi od 110 bolesnika pre početka dijalize i njihovim upoređivanjem sa DIM u grupi od 345 bolesnika na HD i grupi od 302 zdrava kontrolna subjekta, Shoji i saradnici su došli do zaključka da zadebljanje arterijskog zida kod bolesnika sa HBB postoji pre početka dijaliznog tretmana i da je povezano sa renalnom insuficijencijom i/ili metaboličkim poremećajima usled renalne insuficijencije, a ne sa hemodijaliznim tretmanom (366). U našem istraživanju je potvrđeno da postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima DIM između 3 grupe ispitanika: kontrolne grupe, bolesnika sa IV i bolesnika sa V stepenom HBB (0.72 mm vs 0.86 mm vs 0.89 mm; $p=0.001$). Ovi rezultati ukazuju da se arterijske promene pojavljuju rano tokom progresije HBB i da napreduju postepeno sa pogoršanjem bubrežne funkcije. Studije Ekarta sa saradnicima i Prestona sa saradnicima su takodje pokazale da bolesnici sa III, IV i V stadijumom HBB imaju više vrednosti DIM (367-368), što je u saglasnosti sa rezultatima studije Go-a i saradnika kojom je utvrđeno da bolesnici sa ovim stepenom HBB imaju i lošiji ishod (33).

Povećana DIM karotidnih arterija se ne smatra samo validnim markerom težine generalizovane ateroskleroze, već i kritičnom lezijom koja predisponira formiranje aterosklerotičnih plakova. Povezanost između DIM i prisustva karotidnih plakova kod bolesnika sa HBB je dokazana u mnogim cross-sectional studijama, ali interpretacija

ove povezanosti u odnosu na evoluciju aterosklerotičnog procesa ostaje nejasna, zbog odsustva longitudinalnih studija koje bi se bavile ovakvim istraživanjem. Studija Benedetta i saradnika je prema našem saznanju jedina koja je pratila promene u DIM i drugim ultrazvučnim indikatorima ateroskleroze kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću i procenjivala njihovu prognostičku vrednost za incidentne kardiovaskularne događaje. Prema njihovim rezultatima ponavljano merenje DIM tokom vremena nije pružilo dodatne prognostičke informacije u odnosu na jednokratno merenje, ali longitudinalno praćenje formiranja aterosklerotičnih plakova je pokazalo značajno povećanje broja plakova tokom vremena i potvrdilo njihov značaj za stratifikaciju kardiovaskularnog rizika u ovoj populaciji bolesnika (369).

Većina dosad objavljenih studija o karotidnoj aterosklerozi je opisala češće prisustvo aterosklerotičnih plakova i vaskularnih kalcifikacija kod bolesnika sa HBB u odnosu na opštu populaciju. Već spomenuto istraživanje Ekarta i saradnika pokazalo je veću učestalost (46.2 vs 17.5%; $p < 0.002$) i veći broj plakova ($p < 0.003$) u grupi od 104 bolesnika (faza HBB 1-5; prosečna starost 51.6 godina) u odnosu na kontrolnu grupu (367). Još 1996. godine, Pascasio sa saradnicima je objavio studiju u kojoj se DIM nije značajno razlikovala između grupe bolesnika na HD i kontrolne grupe, ali je stepen karotidnih plakova bio značajno viši u grupi na HD (370), da bi kasnije i neki drugi autori saopštili slične rezultate kod bolesnika sa različitim stadijumima HBB (302, 356). U nedavno publikovanoj studiji Shakeri-ja i saradnika, bolesnici na HD imali su značajno veću učestalost plakova u zajedničkoj karotidnoj arteriji, ali se učestalost plakova u karotidnom bulbusu nije značajno razlikovala između bolesničke i kontrolne grupe (364). Naše istraživanje nije otkrilo statistički značajnu razliku u prisustvu karotidnih plakova između grupe bubrežnih bolesnika i kontrolne grupe zdravih ispitanika, što se može objasniti razlikama u metodologiji ultrazvučnog ispitivanja karotidnih arterija ili selekcijom kontrolne i bolesničke grupe u odnosu na druge studije. Među različitim studijama postoje varijacije u definisanju karotidnih plakova, u načinu skorovanja, kao i u tačnoj lokaciji gde je izvršeno merenje: bifurkaciji, karotidnom bulbusu, a. carotis communis, a. carotis interni, a. carotis externi, ili kombinaciji navedenih tačaka merenja. Drugo, kontrolna grupa u različitim studijama je bila formirana od zdravih osoba iz opšte populacije (302, 366) ili od osoba koje su imale sličan profil kardiovaskularnog rizika sa izuzetkom bubrežne bolesti (355, 370), a

uparenost po starosti, polu ili BMI se takodje medjusobno razlikovala. Naša grupa bolesnika sa IV i V stadijumom HBB je bila asimptomatska, bez prethodno evidentirane KVB i prilično visoke prosečne starosti (62.6 ± 13.6 god.), dok je kontrolna grupa bila srodna sa njom po godinama starosti i polu, pa se može pretpostaviti da bi starost, kao snažni i nezavisni prediktor aterosklerotičnih plakova, mogla nadvladati dejstvo onih faktora rizika koji su povezani sa renalnom disfunkcijom.

Sa druge strane, mi smo zabeležili značajno češće prisustvo kalcifikovanih plakova kod bolesnika sa HBB nego kod zdravih osoba iz kontrolne grupe, u levoj karotidnoj arteriji ($p < 0.05$), desnoj karotidnoj arteriji ($p < 0.05$) i obostrano ($p < 0.01$). Takodje je nadjena statistički značajna razlika ($p < 0.05$) izmedju bolesničke i kontrolne grupe u odnosu na prisustvo obostranih kalcifikacija (44.3% vs 22.7%), jednostranih kalcifikacija (16.4 vs 4.5) i njihovo odsustvo (39.3% vs 72.7%). Savage i saradnici su medju prvima dokumentovali češće prisustvo kalcifikovanih plakova kod dijaliznih bolesnika: u ispitivanoj grupi od 24 HD bolesnika diskretni plakovi su bili prisutni kod 17 bolesnika (71%) i svi su bili kalcifikovani, dok su u kontrolnoj grupi od 24 zdrava ispitanika 5 (21%) imala diskretne plakove: 2 su imala kalcifikovane, a 3 mekane, ateromatozne plakove (302). Nasuprot tome, Tanaka i saradnici u nedavno publikovanoj studiji koja je obuhvatila bolesnike sa normalnom bubrežnom funkcijom i I-IV stadijumom HBB (medijana GFR $67.9 \text{ mL/min/1.73 m}^2$) nisu otkrili povezanost izmedju bubrežne disfunkcije i kalcifikovanih plakova. Oni su zaključili da je razlog tome visoka proporcija bolesnika sa blagom bubrežnom insuficijencijom, dok mehanizmi uključeni u progresivni razvoj vaskularnih kalcifikacija postaju izraženi tek u umerenoj i teškoj HBB (371). Oni obuhvataju povišeni nivo proizvoda CaxP, povišeni nivo PTH, terapiju vitaminom D, alkalozu, hroničnu inflamaciju i redukovane inhibitore kalcifikacija (36).

Pokušavajući da razjasne još uvek nedovoljno rasvetljenu povezanost izmedju karotidnih plakova i kalcifikacija kod bolesnika sa uznapredovalim stadijumom HBB, Sumida i saradnici su otkrili da su karotidni plakovi povezani sa starošću, muškim polom, *diabetes mellitus*-om, PTH, proteinurijom i kalcifikacijama, dok su kalcifikacije udružene sa starošću, hipertenzijom, dislipidemijom, serumskim albuminom, proizvodom CaxP, proteinurijom i plakovima (372). Nezavisna medjusobna povezanost plakova i kalcifikacija u karotidnim arterijama sugerise snažnu povezanost izmedju

karotidnih kalcifikacija i ateroskleroze i potvrđuje da su kalcifikacije važna karakteristika arterijske bolesti u HBB.

5.3. DETERMINANTE NIVOVA KARDIJALNIH BIOMARKERA

5.3.1. C REAKTIVNI PROTEIN

U ovoj studiji mi smo koristili visokosenzitivni CRP kao marker inflamacije, jer je ovaj marker klinički relevantan, često upotrebljavan u brojnim prethodnim studijama i dostupan u kliničkoj praksi. U hroničnoj bubrežnoj slabosti hsCRP nije indikativan samo za prisustvo inflamacije niskog stepena (*low-grade*), već je široko prihvaćen i kao marker ateroskleroze. Prevalencija povišenog nivoa hsCRP-a je uglavnom ispitivana kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB, kod kojih je dokazana povezanost hsCRP-a sa brojem aterosklerotičnih plakova (229), sa prisustvom srčanih valvularnih kalcifikacija (230), sa vaskularnim kalcifikacijama aorte i arterija šaka (231), kao i sa ehokardiografskim parametrima hipertrofije leve komore (232). Medjutim, mnogo je manje studija koje su se bavile ispitivanjem značaja CRP-a u predijaliznoj populaciji bolesnika sa HBB.

Rezultati našeg istraživanja pokazali su da je nivo hsCRP-a značajno viši u populaciji asimptomatskih bolesnika sa IV i V fazom HBB nego u kontrolnoj grupi zdravih osoba ($p < 0.05$), ali primenom analize varijansnog količnika nije dokazan statistički značajan međjugrupni varijabilitet između 3 grupe ispitanika sa različitim nivoom bubrežne funkcije. Ovaj rezultat je posledica male razlike u prosečnim vrednostima CRP-a između grupe bolesnika sa IV i grupe sa V stadijumom HBB. Pretpostavljamo da je razlog tome stanje uznapredovale hronične bubrežne slabosti bez prisustva manifestne inflamacije, u kome su se već akumulirali brojni faktori nezavisni od dijalize koji doprinose i podržavaju stanje „tihe“ inflamacije, ali se još nisu pridružili faktori povezani sa dijaliznim lečenjem koji bi bili odgovorni za dalje povećanje vrednosti hsCRP-a (234). Tokom poslednjih godina i mnoge druge studije su potvrđile značajno više serumske vrednosti hsCRP-a u populaciji predijaliznih bolesnika sa umerenom i uznapredovalom HBB u odnosu na populaciju zdravih osoba (373-374).

Od 59 testiranih bolesnika u našoj studiji, 20 (34%) su imala nivo hsCRP-a veći od 6 mg/l, što je u saglasnosti sa nalazima Stenvinkela i saradnika koji su zabeležili prevalenciju inflamacije od 32% medju predijaliznim bolesnicima (228), ali daleko niže od 67% koliko su nedavno objavili Abraham i saradnici (375). Većina dosad objavljenih studija je bila cross-sectional dizajna, što je isključilo mogućnost serijskog praćenja nivoa hsCRP-a radi procene perzistentnosti inflamacije (228, 373-376). Na osnovu dostupnih podataka, može se zaključiti da prevalencija inflamacije značajno varira zavisno od kriterijuma za njeno definisanje, stadijuma hronične bubrežne slabosti, ali i od podneblja, a naročito razvijenosti zemlje u kojoj se istraživanje sprovodi. Tako je vrlo visoka prevalencija inflamacije medju predijaliznim bolesnicima zabeležena u Indiji, što se objašnjava ogromnom većinom bolesnika u V stadijumu HBB kojima se ne može obezbediti terapija zamene bubrežne funkcije usled nepristupačnosti sistema zdravstvenog osiguranja ili ograničenih zdravstvenih resursa (375).

Jedan od naših ciljeva bio je ispitivanje prediktivnog značaja relevantnih kliničkih, laboratorijskih i ehosonografskih parametara u grupi asimptomatskih, predijaliznih bolesnika za serumske vrednosti hsCRP-a. U *backward* modelu višestruke linearne regresije kao statistički značajni prediktori izdvojili su se DIM karotidnih arterija, zasićenje transferina, broj leukocita i brzina sedimentacije eritrocita, čijom koegzistencijom se može objasniti 51% varijabiliteta hsCRP-a. Na taj način ova studija ukazuje na povezanost sistemske inflamacije niskog stepena i vaskularne bolesti u uremijskom miljeu predijalizne faze HBB, kod bolesnika bez ispoljenih kliničkih simptoma i bez anamnestičkih podataka o preegzistentnoj KVB. Inflamacija može biti uzrok ali i marker postojeće kardiovaskularne bolesti, s obzirom da brojni radovi poslednjih godina ukazuju da je vaskularna bolest *per se* inflamatorni proces i da markeri inflamacije samo odražavaju već postojeću vaskularnu bolest (279).

Povezanost hsCRP-a sa brojem leukocita u našoj studiji je očekivana, jer je broj leukocita tradicionalni marker inflamacije i odgovora na infekciju, a prethodne studije su otkrile značajnu povezanost broja leukocita i neželjenog ishoda u dijaliznoj populaciji (377). Uzroci mikroinflamacije u ovoj studiji nisu posebno analizirani, ali sa kliničkog aspekta inflamacija i malnutricija se često posmatraju zajedno, jer inflamacija povećava katabolizam i smanjuje sintezu proteina dovodeći do razvoja proteinsko-

energetske malnutricije (378). Proteinsko-energetska malnutricija može voditi oksidativnom stresu, koji povećava aktivnost proinflamatornih citokina (379). U literaturi se stoga često navodi da proteinsko-energetska malnutricija može smanjiti odbranu domaćina i predisponirati dijalizne bolesnike za latentnu ili ispoljenu infekciju i inflamaciju (380). Naši rezultati nisu potvrdili povezanost između hsCRP-a i albumina, što ukazuje da interakcija između inflamacije i malnutricije ne mora biti tako jaka kod stabilnih predijaliznih bolesnika u poredjenju sa bolesnicima na dijalizi.

Prema našim rezultatima, DIM karotidnih arterija je najznačajniji nezavisni prediktor nivoa hsCRP-a u grupi bolesnika sa uznapređovalom HBB ($p=0.001$). Nezavisna povezanost između markera asimptomatske ateroskleroze i sistemske inflamacije je potvrđena i u brojnim drugima studijama. Stenvinkel sa saradnicima je među prvima pronašao snažnu povezanost između CRP-a i DIM karotidnih arterija kod predijaliznih bubrežnih bolesnika (228). U studiji Banerjee-a i saradnika kojom su obuhvaćeni nedijabetični predijalizni bolesnici od III-V stadijuma HBB, sistemska inflamacija i insulinska rezistencija su bile značajno povezane sa smanjenjem dilatacije brahijalne arterije posredovane protokom kao markerom endotelijalne disfunkcije i sa povećanjem DIM kao markerom ateroskleroze (374). Mereći dilataciju posredovanu protokom i DIM brahijalnih arterija kod bolesnika sa III i IV stadijumom HBB, Ghanavatian i saradnici su pronašli značajnu korelaciju između DIM i hsCRP-a, VCAM, TNF i IL-6 (373). Ovi noviji radovi ne samo da potvrđuju inflamatornu prirodu ateroskleroze, već dokazuju abnormalnost endotelne funkcije kod asimptomatskih bolesnika, reafirmišući hipotezu po kojoj endotelna disfunkcija prethodi razvoju KVB u uremijskom okruženju (381).

Pored DIM karotidnih arterija, u našoj studiji zasićenje transferina se takodje pojavljuje kao visoko značajni nezavisni prediktor nivoa hsCRP-a. U univarijantnoj analizi zasićenje transferina i serumsko Fe su pokazali značajnu negativnu korelaciju sa nivoom hsCRP, dok je u multivarijantnoj analizi samo zasićenje transferina zadržalo nezavisnu prediktivnu vrednost. Sa druge strane, u ovoj studiji nije određivan nivo feritina, kliničkog markera rezervi Fe koji je značajno uplivisan inflamacijom. Feritin podstiče akumulaciju makrofaga tokom inflamacije i povećava nivo reaktivnih kiseoničnih radikala (382). Takodje je značajno povezan sa mortalitetom i

kardiovaskularnim ishodom kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom slabošću (383). Nisko serumsko Fe i nizak TSAT, uz vrednosti feritina veće od 100 ng/ml ukazuju na funkcionalni deficit Fe, koji je često prisutan u HBB (384). U studiji Tsuboi-a i saradnika koja je ispitivala povezanost izmedju statusa Fe i KVB kod starijih žena, niski nivoi serumskog Fe su takodje bili nezavisno udruženi sa visokim nivoom hsCRP-a. Zaključeno je da povećani nivo proinflamatornih citokina karakterističan za prisustvo hroničnog, blagog proinflamatornog stanja, utiče na metabolizam Fe. Tako IL-6 indukuje hepatičku produkciju hepcidina, regulatornog hormona koji inhibira absorpciju Fe iz gastrointestinalnog trakta i oslobađanje Fe iz makrofaga, rezultirajući smanjenim nivoom Fe u serumu (385). Kod bolesnika na HD, saopštena je povezanost izmedju višeg bazalnog nivoa CRP-a i lošeg odgovora na suplementaciju Fe (386).

5.3.2. NATRIURETSKI PEPTIDI

Natriuretski peptidi se sve više koriste u kliničkoj praksi za dijagnostikovanje disfunkcije miokarda. Njihov sve veći značaj se može sagledati iz zajedničkog saopštenja Evropskog kardiološkog društva o srčanoj insuficijenciji, u kome se jasno definiše zavisnost nivoa natriuretskih peptida od renalne disfunkcije kao komorbiditeta često prisutnog kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom (387). Idealni natriuretski peptid koji bi se koristio za dijagnozu i praćenje srčane disfunkcije u stanju HBB ostaje i dalje predmet rasprave. U ovoj studiji, mi smo odredjivali cirkulišuće nivoe 2 natriuretska peptida, BNP-a i NT-proBNP-a, kod asimptomatskih, stabilnih bolesnika sa IV i V stadijumom HBB. Upoređivanjem dobijenih vrednosti, ustanovili smo da su nivoi BNP-a i NT-proBNP-a značajno viši u grupi bubrežnih bolesnika bez manifestne KVB nego u kontrolnoj grupi zdravih osoba ($p < 0.01$ vs. $p < 0.001$), dok je izmedju prosečnih vrednosti BNP-a i NT-proBNP-a potvrđena statistički visoko značajna korelacija ($p < 0.001$).

Dalje, logaritmovane vrednosti i BNP-a i NT-proBNP-a su pokazale inverznu korelaciju sa GFR u grupi asimptomatskih bolesnika sa IV i V stadijumom HBB. Klirens BNP-a, kao biološki aktivnog fragmenta proBNP-a, odvija se putem endocitoze i lizosomalne degradacije usled vezivanja za klirens receptore tipa C i sekundarno, putem proteolize nakon aktivacije neutralne endopeptidaze (120, 122). Periferni receptori za NT-proBNP nisu poznati i njegov klirens nije u potpunosti razjašnjen, ali renalna ekskrecija može

igrati ulogu u eliminaciji NT-proBNP-a (123, 157). Međutim, mali broj studija ubedljivo podržava pretpostavku da renalna disfunkcija u većoj meri utiče na vrednosti NT-proBNP-a, nego na vrednosti BNP-a (151, 388). U našoj studiji, razlika između vrednosti NT-proBNP-a u bolesničkoj i kontrolnoj grupi je bila statistički značajnija ($p < 0.001$) u odnosu na razliku između vrednosti BNP-a ($p < 0.01$), ali u multivarijantnoj analizi GFR nije pokazala nezavisnu prediktivnu vrednost ni za vrednosti BNP-a, ni za vrednosti NT-proBNP-a.

Velika BNP (Breathnig Not Properly) multinacionalna studija je ustanovila slabu, ali statistički značajnu povezanost između GFR i BNP-a kod bolesnika sa akutnom dispnejom, od kojih je 35% imalo istoriju srčane insuficijencije, a 25% istoriju infarkta miokarda. U ovom stanju teško je proceniti uticaj renalne disfunkcije na nivo natriuretskih peptida, imajući u vidu da postoji dodatni i promenljivi doprinos sistolne i dijastolne disfunkcije leve i desne komore, ishemije miokarda, preopterećenja tečnošću i mitralne regurgitacije (139). U istraživanju Tsutamoto-a i saradnika, bolesnici sa srčanom insuficijencijom koji su imali GFR < 40 mL/min i viši nivo BNP-a zaista su imali višu medijanu LVEDP u poredjenju sa bolesnicima koji su imali bolje očuvanu GFR (389). Takvi bolesnici sa ispoljenim „kardiorenalnim sindromom“ (390) takodje mogu imati više nivoa BNP-a koji proističu iz uznapredovale srčane bolesti, većeg preload-a i drugih višestrukih komorbiditeta (391-392). Lažno niže procenjena GFR može biti izazvana lošom renalnom perfuzijom ili upotrebom diuretika u akutnoj srčanoj insuficijenciji, što može dalje komplikovati ispitivanje povezanosti sa natriuretskim peptidima (393). Da bi minimizirali uticaj ovih faktora, Takami i saradnici su isključili pacijente sa LVEF $< 40\%$, abnormalnom regionalnom pokretljivošću zida i valvularnom bolešću u studiji koja je obuhvatila 103 hospitalizovana bolesnika u predijaliznoj fazi HBB i pronašli da je nivo BNP-a bio nezavisan od GFR, ali zavisao od ehokardiografskih surogata end-dijastolnog volumena i pritiska leve komore (14).

Do sada je sproveden ograničeni broj studija koje su direktno upoređivale natriuretske peptide BNP i NT-proBNP kod bolesnika sa HBB (13, 151, 388). Vickery i saradnici su prikazali porast koncentracije natriuretskih peptida sa opadanjem GFR, koji je bio izraženiji za NT-proBNP. Iako je medijana LVEF bila normalna za sve stratus HBB, 6% bolesnika je imalo prevalentnu srčanu insuficijenciju i 35% je imalo poznatu KVB.

S obzirom da nije izvršena detaljna evaluacija srčane funkcije, opservirani porast natriuretskih peptida se ne može isključivo pripisati GFR, ali je u ovoj studiji prikazana veća zavisnost NT-proBNP-a od GFR što je u skladu sa hipotezom da je njegov klirens predominantno renalni (13). Na osnovu sličnih rezultata dobijenih kod stabilnih bolesnika sa III i IV stadijumum HBB, sa normalnom ejakcionom frakcijom i bez manifestne kardijalne ili vaskularne bolesti, Tagore i saradnici predlažu BNP kao prikladniji marker za skrining srčane disfunkcije u HBB (388). Nasuprot tome, Luchner i saradnici su pokazali, u grupi bolesnika koja je preživela infarkt miokarda, da je već blaga renalna disfunkcija udružena sa prividno jednakim (dvostrukim) povećanjem vrednosti medijane oba natriuretska peptida i da oba markera koreliraju sa GFR u univarijantnoj i multivarijantnoj analizi. Bolesnici sa renalnom disfunkcijom (GFR <85 mL/min) imali su prosečni klirens 71 mL/min, ali slične strukturne ehokardiografske karakteristike, identično redukovanu LVEF (50%) i sličnu učestalost samoprijavljene srčane insuficijencije u odnosu na grupu sa očuvanom GFR. Autori su zaključili da je renalna disfunkcija potencijalni uzrok povećanih koncentracija natriuretskih peptida u odsustvu disfunkcije leve komore i da bi stoga cut-off koncentracije trebalo stratifikovati u skladu sa renalnom funkcijom (151).

Naša studija je pokazala povezanost BNP-a i NT-proBNP-a sa brojnim demografskim, kliničkim, laboratorijskim i ehosonografskim karakteristikama stabilnih bolesnika svrstanih u IV i V stadijum HBB. Medjutim, u multivarijantnoj analizi, *backward* model, statistički značajan uticaj na vrednost lnBNP-a ostvarili su starost ($p < 0.05$), BMI ($p = 0.005$), proteinurija ($p < 0.05$), A's ($p = 0.005$) i E/E'a ($p < 0.05$), jer se njihovom koegzistencijom može objasniti 63% varijabiliteta lnBNP-a. Sa druge strane, u regresionom modelu lnNT-proBNP-a kao statistički značajni regresori izdvojili su se nivo Hb ($p < 0.01$), holesterol ($p < 0.001$), LA ($p < 0.05$), FS ($p < 0.001$) i E/E's ($p < 0.01$), čijom koegzistencijom se objašnjava 53% varijabiliteta lnNTproBNP-a. Iako su BNP i NT-proBNP pouzdani markeri LVH, sistolne disfunkcije, koronarne arterijske bolesti i preopterećenja volumenom kod bolesnika u različitim stadijumima HBB (14-15, 143-145, 155, 159-160), opisano je da su nivoi oba hormona u cirkulaciji uplivisani i drugim, ne-kardijalnim faktorima kao što su starost, pol, gojaznost, renalna funkcija i anemija (394).

Korelacija natriuretskih peptida sa starošću zabeležena je i u zapadnoj (395) i u azijskoj populaciji (388). Godine starosti u našem istraživanju su pokazale značajnu pozitivnu korelaciju sa nivoom BNP-a i NT-proBNP-a, dok je u multivarijantnoj regresionoj analizi starost pokazala značajnu nezavisnu prediktivnu vrednost samo za nivo BNP-a. Ovo nije neočekivano kada se radi o bolesnicima sa uznapredovalom HBB kod kojih je visoko zastupljena LVH, kao varijabla koja usko korelira sa starošću.

Nekoliko studija novijeg datuma saopštilo je postojanje poveznosti između anemije i povišenog nivoa natriuretskih peptida kod bolesnika sa i bez srčane insuficijencije (15, 394, 396-397). Kod naših bolesnika sa uznapredovalom HBB, nivo Hb je negativno korelirao sa koncentracijama natriuretskih peptida u univarijantnoj analizi, a u multivarijantnoj analizi pokazao je nezavisnu prediktivnu vrednost za nivo lnNT-proBNP-a. Ispitujući grupu od 809 bolesnika sa koronarnom bolešću bez srčane insuficijencije, Desai i saradnici su takodje utvrdili da anemija ostaje nezavisno povezana sa NT-proBNP-om posle prilagodjavanja za KV faktore rizika (396). Studija Knudsena i saradnika je potvrdila da anemija može doprineti povećanom nivou BNP-a u odsustvu srčane insuficijencije, i da anemija može komplikovati interpretaciju povezanosti između BNP-a i srčane funkcije, kao i prognoze (397). Mali broj studija je razmatrao anemiju kao prediktor nivoa natriuretskih peptida kod bolesnika sa HBB. U cross-sectional studiji koja je obuhvatila 296 bolesnika sa različitim stadijumima HBB, Mark i saradnici su pokazali da na serumski nivo BNP-a utiču brojni ne-kardijalni faktori, uključujući beta-blokatore, albumin, Hb, starost i renalnu funkciju (15).

Bliska povezanost između nižeg nivoa Hb i povišenih vrednosti natriuretskih peptida, kao markera hemodinamskog stresa, može biti objašnjena pomoću nekoliko mehanizama. Hemodinamski mehanizmi adaptacije na hroničnu anemiju uključuju povećani minutni volumen posredovan nižim afterload-om usled smanjenja sistemske vaskularne rezistencije, povećanim preload-om usled povećanja venskog priliva i povećanom funkcijom LV koja se pripisuje povećanoj aktivnosti simpatičkog nervnog sistema (398). Ovo znači da stanje hronične anemije rezultira u povećanju volumena plazme, te se BNP i NT-proBNP mogu oslabadjati kao odgovor na povećano opterećenje leve komore volumenom i povećani stres zida (399). Dalje, u prisustvu anemije produkcija ovih vazodilatatornih peptida može biti povećana i kao mehanizam kojim se organizam suprostavlja vazokonstriktornim efektima cirkulišućih

neurohormona, kao što su kateholamini i angiotenzin II. U skladu sa ovom hipotezom, studije su pokazale da čitav varijetet vazokonstriktornih hormona, uključujući norepinefrin i angiotenzin II, direktno stimuliše produkciju natriuretskih peptida (400). Medjutim, takodje je moguće da se kod bolesnika u uznapredovaloj fazi HBB nadje subklinička ventrikularna disfunkcija praćena povišenim nivoom natriuretskih peptida, i u tom slučaju bi niži nivo Hb odražavao hemodiluciju kao rezultat preopterećenja volumenom, a ne pravu anemiju (401).

U našem istraživanju je takodje pronadjena inverzna korelacija izmedju BMI i nivoa natriuretskih peptida. Multivarijantna regresiona analiza je pokazala da BMI ima nezavisnu prediktivnu vrednost za nivo lnBNP-a, dok je holesterol bio statistički značajan nezavisni prediktor nivoa lnNT-proBNP-a. Ovi rezultati su u skladu sa zapažanjima drugih autora da gojazne osobe i osobe sa prekomernom telesnom težinom imaju znatno niže nivoe natriuretskih peptida nego osobe sa normalnim BMI. Gojaznost je udružena sa retencijom soli i povećanjem minutnog volumena, pa bi se očekivalo da je praćena i povišenim nivoom natriuretskih peptida. Činjenica da je efekat gojaznosti na nivo natriuretskih peptida suprotan ukazuje da je možda izazvan nehemodinamskim faktorima (402). Receptori odgovorni za klirens natriuretskih peptida (NPR-C) pronadjeni su u izobilju u masnom tkivu, što ukazuje da adipociti učestvuju u uklanjanju natriuretskih peptida iz cirkulacije (403). Povećana genska ekspresija NPR-C gena dokumentovana je u masnom tkivu gojaznih i hipertenzivnih osoba (404), i alelske varijante ovog gena su udružene sa nižim plazmatskim nivoima natriuretskih peptida (405). Dalje, redukovana sekrecija natriuretskih peptida zbog smanjenog oslobadjanja hormona iz miokarda ili pogoršane sinteze takodje može biti važno objašnjenje za niske nivoe natriuretskih peptida u cirkulaciji (406). Kasnija istraživanja su ponudila interesantnu mogućnost da je odnos izmedju gojaznosti i natriuretskih peptida dvosmeran. Naime, adipociti eksprimuju na svojoj površini i NPR-A receptore koji su odgovorni za biološke efekte natriuretskih peptida (405). Istraživači su demonstrirali da vezivanje ANP-a za NPR-A receptore na adipocitima indukuje lipolizu (407). Na taj način, niski nivoi natriuretskih peptida mogu voditi redukovanoj lipolizi, što dodatno podstiče stanje gojaznosti.

Olsen i saradnici su prvi pokazali da su serumske vrednosti NT-proBNP-a niže kod bolesnika sa metaboličkim sindromom, što se može pripisati inverznoj povezanosti izmedju NT-proBNP-a i BMI, serumskog insulina, holesterola i triglicerida nezavisno od starosti i pola (408). U svetlu metaboličkog sindroma se može razmatrati i nezavisna inverzna povezanost izmedju holesterola i NT-proBNP-a zabeležena u našoj studiji. Inverzna povezanost izmedju serumskog BNP-a i BMI je već pomenuta i tom prilikom je postavljena hipoteza po kojoj je upravo to potencijalna karika izmedju gojznosti i hipertenzije, jer gojazni ljudi mogu imati niže (neprikladno niske) vrednosti natriuretskih peptida za dati pulsni pritisak što pogoršava prirodnu regulaciju krvnog pritiska (402). Sa druge strane, insulinska rezistencija i povećana visceralna gojaznost, nezavisno od BMI, koreliraju sa nižim koncentracijama perifernih natriuretskih peptida. Relativni deficit natriuretskih peptida koji se vidja kod gojaznih osoba može se delimično pripisati insulinskoj rezistenciji i može biti jedan od mehanizama putem kojih insulinska rezistencija podstiče hipertenziju (409).

Proteinurija i albuminurija su prihvaćeni markeri bubrežnog oštećenja i udruženi su sa sniženom GFR i sa povećanim rizikom progresije HBB ka terminalnoj fazi (410). U našem istraživanju, proteinurija je korelirala sa nivoom BNP-a, a u multivarijantnoj regresionoj analizi zadržala je statistički značajnu prediktivnu vrednost za nivo lnBNP-a. Brojni faktori mogu objasniti povećani nivo BNP-a kod bolesnika sa proteinurijom. Prvo, utvrđeno je da intravenska infuzija BNP-a povećava urinarnu ekskreciju albumina u prethodno normoalbuminuričnih osoba, što ukazuje da proteinurija može biti indikator prethodno visokog nivoa natriuretskih peptida (411). Drugo, nishodna regulacija gvanilat-ciklaza kuplovanih receptora tipa A (NPR-A) u renalnim tubulima može objasniti porast BNP i ANP-a kod osoba sa mikroalbuminurijom (412). ANP ispoljava vazodilatatorne efekte na aferentne arteriole i vazokonstriktorne efekte na eferentne arteriole povećavajući hidrostatski kapilarni pritisak u glomerulima (413). Kako se ANP i BNP vezuju za iste receptore i imaju istu biološku aktivnost, logična je pretpostavka da abnormalno povećani nivo BNP-a takodje uzrokuje povećanje glomerulskog hidrostatskog pritiska i na taj način izaziva povećanu ekskreciju albumina. Može se zaključiti da opterećenje pritiskom i ekspanzija volumena usled pogoršane glomerulske filtracije mogu stimulisati sekreciju BNP iz srčanih komora. Porast BNP-a može voditi povećanju glomerulskog hidrostatskog pritiska i indukovati

povećanu ekskreciju albumina. Povezanost između proteinurije i natriuretskih peptida navodi na pretpostavku da i povećani nivo natriuretskih peptida može biti faktor rizika za progresiju bubrežne slabosti (414).

Rezultati našeg ispitivanja pokazali su značajnu korelaciju natriuretskih peptida sa ehokardiografskim parametrima srčane strukture, sistolne i dijastolne funkcije leve komore, pri čemu je dijastolna disfunkcija merena odnosom E/E' ostvarila statistički značajan uticaj u multivarijantnoj analizi i na vrednosti lnBNP-a i na vrednosti lnNT-proBNP-a. Srčana insuficijencija je jedan od glavnih uzroka mortaliteta bolesnika lečenih ponavljanim hemodijalizama, a čak 40-50% ovih bolesnika ima očuvanu sistolnu funkciju, što ukazuje da je dijastolna disfunkcija najčešća abnormalnost koja uzrokuje ovaj poremećaj (415). Od velike važnosti je identifikovati dijastolnu disfunkciju u populaciji asimptomatskih bolesnika pre početka dijaliznog lečenja, jer to olakšava rane terapijske intervencije i poboljšava prognozu.

Doppler ehokardiografija danas igra ključnu ulogu u neinvazivnoj proceni dijastolne funkcije srca, ali na njene glavne parametre (E, A) utiču volumen krvi, kao i anatomija i funkcija mitralne valvule. Sa druge strane, pokazalo se da je TDI nezavisan od ovih faktora, da je precizniji od konvencionalnih merenja za detekciju pogoršane dijastolne funkcije kod bolesnika sa očuvanom EF i da pokazuje bolju linearnu korelaciju sa rezultatima invazivnih merenja, ali su cena i utrošeno vreme razlog za slabu dostupnost u svakodnevnoj praksi (338-341, 416). Natriuretski peptidi se sekretuju iz ventrikula u odgovor na ekscesivnu distenziju zida ventrikula, različita patološka stanja (ishemija miokarda ili kardiomiopatija) i povećano oslobađanje kateholamina, renina, angiotenzina II i endotelina (417). U opštoj populaciji, povećane vrednosti B-tipa natriuretskih peptida su povezane sa LVH i sistolnom disfunkcijom (418-419). Ispitivanja bolesnika sa HBB pokazala su da su nivoi BNP-a i NT-proBNP-a i kod ovih bolesnika udruženi sa LVH i sistolnom disfunkcijom (16-17, 96, 143-146, 148-149). Međutim, klinička vrednost natriuretskih peptida u identifikaciji dijastolne disfunkcije leve komore još uvek nije u potpunosti rasvetljena.

Prema našim saznanjima, Liu i saradnici su prvi zaključili da BNP može poslužiti kao potencijalni biomarker u dijagnostikovanju dijastolne disfunkcije LV kod bolesnika na hemodijalizi sa normalnom sistolnom funkcijom, iako senzitivnost BNP-a (80%) nije

bila dovoljna da isključi dijastolnu disfunkciju kod bolesnika sa vrednostima BNP-a nižim od cut-off vrednosti. S obzirom da patofiziološki procesi u osnovi dijastolne srčane insuficijencije nisu razjašnjeni, oni su pretpostavili da nivo BNP-a može biti uplivisan mnogim faktorima kao što su snižena GFR, hipertenzija, *diabetes mellitus*, ishemija, inflamacija i sekundarni hiperparatiroidizam (416). Nedavno su Takase i saradnici objavili rezultate istraživanja koje je obuhvatilo 98 stabilnih bolesnika na hemodijalizi sa normalnom sistolnom funkcijom i zaključili da je dijastolna disfunkcija LV kod ovih bolesnika bila udružena sa povećanim nivoom BNP-a i povećanim rizikom kardiovaskularnih događaja (420).

Rezultati koje smo mi dobili ispitivanjem asimptomatskih, predijaliznih bolesnika u IV i V stadijumu HBB i bez preegzistentnih KVB, saglasni su sa rezultatima prethodno navedenih studija i ukazuju da je poremećena relaksacija LV važan uzrok povećanja vrednosti natriuretskih peptida u ovoj populaciji. S obzirom da se natriuretski peptidi sekretuju kao odgovor na povećanje pritiska punjenja LV (101, 115), jasno je da dijastolna disfunkcija LV kod nekih bolesnika može stimulisati sekreciju BNP-a. Međutim, iako većina prethodnih studija saopštava da su povećane vrednosti natriuretskih peptida bile udružene sa LVH (15, 143-145, 159), u prezentovanoj studiji mi nismo uspjeli da potvrdimo nezavisnu korelaciju između nivoa BNP-a i LVMI. To može biti posledica relativno uskog raspona LVMI koji se dobija za stabilne bolesnike, koji nisu imali simptome i znake srčanih oboljenja, niti su imali zabeležene kardiovaskularne događaje u ličnoj anamnezi. Druga mogućnost je da postoje različiti mehanizmi odgovorni za LVH i dijastolnu disfunkciju i da dijastolna disfunkcija ima veći uticaj na nivo natriuretskih peptida nego LVH.

5.3.3. SRČANI TROPONINI

Srčani troponini, TnT i TnI, su niskomolekularni proteini koji čine deo troponinskog kompleksa i integralne su komponente kontraktilnog aparata u miofibrilama srčanog mišića (165). Gubitak integriteta ćelijskih membrana kardiomiocita uzrokuje oslobađanje troponina u cirkulaciju, gde se oni mogu detektovati visoko senzitivnim testovima koji su razvijeni u cilju dijagnostike akutnog koronarnog sindroma (182-188). Međutim, povećane koncentracije srčanih troponina u serumu bolesnika sa HBB mogu se naći i u odsustvu akutnog koronarnog sindroma, a većina dosad navedenih studija

pokazala je veću učestalost povišenih koncentracija TnT u odnosu na TnI (193, 198, 200). Iako se u našoj studiji radilo o asimptomatskim bolesnicima sa IV i V stadijumom HBB bez prethodne kardiovaskularne patologije, potvrđeno je da su prosečne vrednosti srčanih troponina značajno više u ovoj grupi nego u kontrolnoj grupi zdravih osoba: za TnT 0.035 ± 0.06 ng/ml vs. 0.00 ± 0.00 ng/ml, $p < 0.001$ i za TnI 0.013 ± 0.023 ng/ml vs. 0.004 ± 0.006 ng/ml, $p < 0.01$. Koncentracije TnT ≥ 0.1 ng/ml pronadjene su kod 18 bolesnika sa HBB (29.5%), dok je koncentracija TnI bila detektibilna (≥ 0.01 ng/ml) kod 29 (47.5%) bolesnika, ali je nivo TnI ≥ 0.05 ng/ml pronadjen samo kod 3 (4.9%) bolesnika.

Povećanje koncentracije TnT kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB opservira se sa učestalošću koja obuhvata 20-90% bolesnika na HD (421). Prevalencija povećanog nivoa TnI u serumu ovih bolesnika uopšteno je niža i najčešće se nalazi u rasponu od 0 do 19% (198, 200, 204, 212, 221, 223). Medjutim, učestalost povećanja pojedinih troponina i njihov odnos kod bolesnika na HD nisu uvek u okvirima saopštenih vrednosti. Tako su Flisinski i saradnici pronašli koncentracije TnI iznad 99th percentila kod 46% bolesnika na hroničnoj HD (420), dok je Seyfeli sa saradnicima saopštio da je u heterogenoj grupi bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB (44 na HD, 41 na PD, 25 predijaliznih) prilikom bazalnih merenja registrovana veća učestalost povišenih vrednosti TnI (25%) nego TnT (17%) (423).

Podaci koji se odnose na bolesnike sa HBB koji još nisu započeli lečenje dijalizom još uvek su ograničeni i međusobno konfliktni (6, 193, 424-428). U studiji Abbasa i saradnika, 43% bolesnika sa III-V stadijumom HBB imalo je koncentracije TnT koje su premašivale 99th percentil gornje referentne granice u odnosu na 18% bolesnika sa povišenim koncentracijama TnI, dok je Goicoechea sa saradnicima zabeležio da 16% bolesnika ima koncentracije TnT ≥ 0.01 $\mu\text{g/l}$, od kojih nijedna nije premašila granicu od 0.1 $\mu\text{g/l}$ (TnI nije meren) (193, 425). Razlika u prevalenciji povišenog nivoa TnT između ove 2 studije objašnjava se različitom strukturom bolesnika u odnosu na nivo bubrežne funkcije: medijana eGFR u studiji Abbas-a bila je 18 ml/min u odnosu na 27 ml/min u studiji Goicoechea-a. Nedavno objavljena istraživanja su potvrdila da se nivo TnT-a postepeno povećava sa opadanjem bubrežne funkcije kada se prati u rasponu od I do V stadijuma HBB (426). De Fillipi i saradnici su pronašli u grupi od 148 bolesnika

sa eGFR <60 ml/min i sa prethodnim IM ili koronarnom revaskularizacijom koncentracije TnI iznad 99th percentilne vrednosti kod 38% bolesnika i TnT kod 68% bolesnika (427), dok su Smith i saradnici ispitujući grupu stabilnih bolesnika sa III-V stadijumom HBB objavili slične rezultate: povišene koncentracije TnI zabeležene su kod 42% bolesnika, a TnT kod 61% bolesnika (428).

U ovom radu, povećane koncentracije TnI kod asimptomatskih, predijaliznih bolesnika sa HBB bile su redje zastupljene od povećanih koncentracija TnT, što je u saglasnosti sa rezultatima većine prethodno navedenih studija. Kao što je opisano, TnI i TnT predstavljaju deo istog troponinskog kompleksa unutar kardiomiocita, pa bi se mogla prepostaviti jednaka dinamika njihovog oslobadjanja u cirkulaciju iako je količina slobodnog TnT-a (7%) u citozolu dvostruko veća u odnosu na količinu TnI (173-174). Oba proteina se posle oslobadjanja podvrgavaju daljim modifikacijama koje mogu uticati na njihovu imunogenost, a uremijsko stanje *per se* bi moglo delovati na procese oslobadjanja, detekcije ili klirensa srčanih troponina (173, 176). Diris i saradnici su predložili hipotezu po kojoj se razlika u frekvenciji povišenih vrednosti TnT i TnI kod bolesnika sa bubrežnom slabošću može pripisati akumulaciji fragmenata TnT male molekulske težine od 8-25 KDa u cirkulaciji, ali ova hipoteza nije potvrđena (427). Drugo moguće objašnjenje uključuje razlike u osetljivosti, standardizaciji i dijagnostičkim pragovima za pojedine testove (424, 430).

Rezultati našeg istraživanja u grupi asimptomatskih bolesnika sa IV i V stadijumom HBB pokazali su da je TnI pozitivno korelirao sa vrednostima krvnog pritiska (SKP, SAP), VLDL holesterola, sa strukturnim parametrima leve komore (PWTd, IVSTd, LVM, LVMI, LVESD) i parametrima srčane funkcije (LVET, MPI), a negativno sa vrednostima Hb i Hct. U multivarijantnoj linearnoj regresionoj analizi, statistički značajan uticaj na vrednosti TnI izvršili su IVSTd ($p < 0.001$), MPI ($p < 0.05$), LVESD ($p < 0.05$) i VLDL holesterol ($p < 0.05$), jer se njihovom koegzistencijom može objasniti približno 38% varijabiliteta TnI. Za razliku od TnI, TnT je korelirao sa brojnim demografskim i laboratorijskim parametrima (pozitivno sa starošću, urejom i alkalnom fosfatazom, a negativno sa Hb, Hct, ukupnim proteinima i GFR), sa ehokardiografskim strukturnim parametrima (IVSTd, LVMI), parametrima dijastolne funkcije (pozitivno sa $A'1$, negativno sa Vp , $E'1/A'1$ i $E'a/A'a$) i sa DIM karotidnih arterija. Statistički značajan uticaj na nivo TnT u multivarijantnom regresionom modelu ostvarili su alkalna

fosfataza ($p < 0.001$), A¹ ($p < 0.05$) i Hct ($p < 0.05$), a koegzistencijom ovih parametara sa starošću može se objasniti približno 50% varijabiliteta TnT.

Veliki broj studija je tokom više od jedne decenije istraživao razloge povišenog nivoa srčanih troponina, kao senzitivnih i specifičnih markera oštećenja srčanog mišića, kod bolesnika sa HBB bez akutnog koronarnog sindroma. Prvi radovi su sugerisali mogućnost da uremijska skeletna miopatija može voditi povećanju nivoa troponina kod ovih bolesnika (431), ali posle uvođenja u upotrebu testova druge i treće generacije sa antitelima koja se vezuju samo za srčani TnT ova hipoteza je izgubila na značaju. Dalja ispitivanja su pokazala da povećanje LVMI može biti delimično odgovorno za povećanje srčanih troponina tokom evolucije HBB. Ricchiuti sa saradnicima je među prvima ukazao da je remodeliranje leve komore udruženo sa smanjenjem intracelularne koncentracije srčanih troponina usled njihovog hroničnog gubitka u cirkulaciju (432), a povećano oslobađanje troponina iz hipertrofičnih kardiomiocita je objašnjeno povećanom permeabilnošću ćelijske membrane (215). Pored toga, uznapredovala fibroza i smrt miocita ili smanjenje kapilarne gustine u hipertrofičnom miokardu dodatno razjašnjavaju povećani nivo troponina u populaciji asimptomatskih bubrežnih bolesnika (214, 423).

Prema radovima brojnih autora, prisustvo LVH kod bolesnika sa HBB bez akutne ishemije miokarda bilo je nezavisno povezano sa povećanim nivoom srčanih troponina. Tako je Abaci sa saradnicima u grupi bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB bez kliničkih dokaza koronarne arterijske bolesti dokazao nezavisnu prediktivnu vrednost LVMI i za serumske nivoe TnT i TnI (433), dok je Satyan sa saradnicima u grupi asimptomatskih bolesnika na HD takodje potvrdio nezavisnu povezanost LVMI sa nivoom TnT (146). U studiji koja je obuhvatila 115 bolesnika lečenih ponavljanim hemodijalizama, Petrović i saradnici su otkrili da je nivo serumskog TnT uplivisan geometrijom LV, pa su značajno veće vrednosti TnT pronađene kod bolesnika sa koncentričnom ($p < 0.01$) i ekscentričnom LVH ($p < 0.001$) u odnosu na bolesnike sa normalnom ventrikularnom morfologijom (434). U nedavno objavljenom radu kojim su obuhvatili bolesnike sa prethodnom koronarnom bolešću i GFR < 60 ml/min, deFillipi i saradnici su saopštili da su u multivarijantnoj analizi oba srčana troponina ostala

povezana sa LVMI, eGFR i proteinurijom, ukazujući na značajan uticaj osnovne srčane i bubrežne bolesti (427).

Medjutim, rezultati različitih studija nisu bili jednoobrazni. Seyfeli i saradnici su pratili vrednosti srčanih tropinina i LVMI na početku i kraju perioda od 18.2 ± 2.2 meseca i zabeležili da se LVMI značajno povećao ukoliko se rezultat testa za TnT promenio iz negativnog u pozitivan, ali ne i kada se rezultat testa za TnI promenio na isti način. Ove nalaze, kao i evidentnije fluktuacije TnI nego TnT tokom perioda praćenja, oni objašnjavaju razlikama u kinetici oslobađanja, celularnoj biologiji, hemiji proteina i tehnologiji testova između dva troponina (423). Kod bolesnika u III i IV stadijumu HBB, Kiatchoosakun i saradnici nisu uspeali da dokažu povezanost TnT sa LVH, već samo sa smanjenom bubrežnom funkcijom (435), a Abbas i saradnici su takodje zaključili da prisustvo LVH ne objašnjava povišene koncentracije TnT i TnI kod predijaliznih bolesnika sa HBB (193). Goicoechea i saradnici su registrovali više koncentracije TnT kod bolesnika sa LVH, ali LVH nije imala prediktivni značaj za povećane koncentracije TnT (425). U našoj studiji, takodje je potvrđena statistički značajna pozitivna korelacija LVMI sa koncentracijama TnT ($p < 0.05$) i TnI ($p = 0.001$), medjutim u multivarijantnim regresionim modelima LVMI nije zadržao nezavisnu prediktivnu vrednost za nivoe TnT i TnI. U regresionom modelu za TnI, najznačajniji statistički uticaj na vrednost TnI ispoljila je debljina interventrikularnog septuma izmerena u dijastoli (IVSTd, $p < 0.001$), inače parametra koji ulazi u formulu za izračunavanje LVMI, pa je ovo možda razlog zbog koga LVMI nije ostvario nezavisnu prediktivnu vrednost za TnI. Koeficijent determinacije ovog modela bio je 0.383, što ukazuje na moguće učešće drugih faktora koji nisu bili praćeni našim istraživanjem, kao što je nedijagnostikovana koronarna arterijska bolest, u objašnjenju opserviranog varijabiliteta TnI.

U prilog ovoj pretpostavci govore i rezultati nedavno objavljenog istraživanja, koje su Quiroga i saradnici sprovedli u grupi od 266 bolesnika sa različitim stepenom HBB ispitujući uticaj inflamacije, prethodne srčane bolesti i bubrežne insuficijencije na nivo kardijalnih biomarkera i zaključili da je jedino ishemijska srčana bolest značajno uticala na nivo TnT (436). Katerinis i saradnici su ispitivanjem 50 asimptomatskih bolesnika na HD registrovali 4 (8%) bolesnika sa perzistentno povišenim nivoom TnI i otkrili da svi

imaju istoriju teške koronarne arterijske bolesti sa srčanom insuficijencijom i ispoljavaju reverzibilnu ishemiju miokarda na dipiridamol-talijum scintigrafiji, kao i koronarne lezije različite težine na koronarnoj angiografiji (437). Ove studije mogu poslužiti kao argumenti za ranije iznetu hipotezu po kojoj povećanje srčanih troponina niskog stepena odražava "tihu" ishemiju miokarda sa ponavljanim mikroinfarktima, indukovanu mikrovaskularnom koronarnom arterijskom bolešću (212, 424). Medjutim, u retrospektivnoj analizi se pokazalo da čak jedna trećina bolesnika sa HBB koji su primljeni zbog suspektnog akutnog koronarnog sindroma ima normalne angiogramne koronarnih arterija (438). Preostaje mogućnost da osim koronarne bolesti i druge srčane abnormalnosti mogu biti uzrok povišenih koncentracija srčanih troponina u HBB, uključujući LVH, srčanu insuficijenciju, opterećenje volumenom, endotelnu disfunkciju i/ili kalcifikacije koronarnih arterija (210, 212, 424).

U našoj studiji, utvrđena je slaba korelacija između TnI i funkcionalnih ehokardiografskih parametara LVET i MPI ($p < 0.05$) kod bubrežnih bolesnika, pri čemu je MPI zadržao nezavisnu prediktivnu vrednost za TnI u multivarijantnom regresionom modelu. Sa druge strane, TnT je korelirao sa parametrima dijastolne funkcije srca ($A'1$, Vp , $E'1/A'1$, $E'a/A'a$) i sa DIM karotidnih arterija kao markerom subkliničke ateroskleroze, ali je u regresionom modelu jedino $A'1$ ostvarila nezavisan statistički značajan uticaj na TnT. Opsežno ispitujući kandidate za transplantaciju bubrega ehokardiografijom, dobutamin stres ehokardiografijom i koronarnom angiografijom, Sharma i saradnici su utvrdili da su povećane koncentracije TnT snažno povezane sa DM, dilatacijom LV i poremećenom sistolnom i dijastolnom funkcijom, ali ne i sa teškom koronarnom arterijskom bolešću (439).

Najnovijim istraživanjem koje su Mishra i saradnici sprovedi u kohorti od 3243 bolesnika sa HBB bez srčane insuficijencije otkriven je detektibilni nivo TnT kod 84% bolesnika, koji je bio snažno povezan sa LVH i blaže sa sistolnom disfunkcijom LV, ali nije bilo povezanosti sa dijastolnom disfunkcijom (440). Nasuprot tome, Kitagawa i saradnici su sugerisali da TnT može biti koristan marker dijastolne disfunkcije LV kod bolesnika sa I-V stadijumom HBB, bez DM. Površina pod ROC krivom za TnT u detekciji $E' < 5$ cm/s bila je 0.880 ($p=0.01$), dok su u multivarijantnoj analizi TnT i albuminurija bili značajno povezani sa E' , a eGFR sa nivoom TnT (426). Pogoršanje

dijastolne funkcije kod bolesnika sa HBB može se pojaviti vrlo rano, čak i u odsustvu LVH. Kod hipertenzivnih bolesnika sa II-V stadijumom HBB, bez KVB i bez srčane insuficijencije, E' se snižava paralelno sa opadanjem bubrežne funkcije, tako da se u V stadijumu HBB registruju vrlo niske vrednosti E' (441). E' je inverzno povezana sa stepenom fibroze u ishemijskim, kao i u normalnim segmentima miokarda (442).

U velikom broju prethodnih studija je potvrđeno da povećanje srčanih troponina, naročito TnT, kod bolesnika sa HBB bez akutnog koronarnog sindroma može biti bar delimično posledica smanjenja renalnog klirensa i slabije renalne ekskrecije troponina (193, 425-427, 435). U skladu sa prethodnim nalazima, naši rezultati takodje pokazuju da su GFR i TnT (ali ne i TnI) inverzno povezani, iako se u multivarijantnom regresionom modelu nije ispoljila nezavisna prediktivna vrednost GFR za nivo TnT. TnT ima molekularnu težinu od 37 kDa, dok je molekularna težina TnI 22.5 kDa. TnI se oslobadja iz ćelija u kompleksima TnT-I-C (77 kDa) i TnI-C (40 kDa), dok se TnT oslobadja kao slobodni TnT ili TnT-I-C kompleksi (176). Nedavne studije su pokazale da se i TnT i TnI degradiraju u ćelijama miokarda i potom oslobadjaju kao mali molekuli koji se još uvek mogu detektovati testovima (429, 443). Diris i saradnici su demonstrirali da se TnT cepa u fragmente veličine od 8 do 25 kDa, čak i u uzorcima sa izmerenim koncentracijama TnT koje su <10 pg/ml. Ovi fragmenti su dovoljno mali da bi se mogli ekskretovati bubrežima, i stoga mogu biti povišeni kod bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom usled usporenog izlučivanja bubrežima (429). Nasuprot tome, Fahie-Wilson sa saradnicima, a zatim i Bates sa saradnicima, saopštavaju da se u serumu bolesnika sa HBB opservira TnT predominantno u slobodnoj, intaktnoj formi, i da ne postoje dokazi prisustva fragmenata TnT u cirkulaciji (211, 444). Ovi stavovi su konzistentni sa gledištem po kome cirkulišući nivo TnT u HBB isključivo odražava oštećenje miokarda.

U našoj grupi asimptomatskih bolesnika sa HBB, nezavisni statistički uticaj na nivo TnT ostvarili su uglavnom ne-kardijalni faktori – starost, nivo Hct i nivo alkalne fosfataze. Starost spada u tradicionalne faktore KV rizika, dok su anemija i sekundarni hiperparatireoidizam poznati netradicionalni faktori rizika specifični za HBB. Većina prethodnih studija je bila fokusirana na bolesnike lečene hemodijalizom, kod kojih su povišene koncentracije TnT takodje bile udružene sa uznapredovalim životnim dobom,

prisustvom KV faktora rizika, istorijom ishemijske srčane bolesti, DM i LVH (204, 212-213). Informacije o srčanim troponinima i njihovoj povezanosti sa komorbiditetima još uvek su oskudne za bolesnike sa HBB pre početka dijaliznog lečenja. U neselektovanoj grupi bubrežnih bolesnika sa GFR <60 ml/min, Goicoechea i saradnici su potvrdili povezanost TnT sa većom prevalencijom kongestivne srčane insuficijencije, LVH, starijim životnim dobom, anemijom i nižom GFR (425).

5.4. PROGNOŠTIČKI ZNAČAJ KARDIJALNIH BIOMARKERA

5.4.1. UKUPNI MORTALITET, KARDIOVASKULARNI MORTALITET I NEŽELJENI KARDIOVASKULARNI DOGADJAJI

Jedan od ključnih ciljeva ove studije bio je praćenje prognostičkog značaja kardijalnih biomarkera za ukupni i kardiovaskularni mortalitet, neželjene fatalne i ne-fatalne kardiovaskularne događaje i progresiju HBB ka terminalnom stadijumu. Uzimajući u obzir sve značajne varijable iz univarijantne analize (kliničke, laboratorijske, ehokardiografske), u multivarijantnom Cox regresionom modelu mi smo dobili aortne kalcifikacije ($p < 0.001$), lnNT-proBNP ($p < 0.01$) i nivo ureje ($p < 0.01$) kao nezavisne prediktore ukupnog mortaliteta, dok su se kao nezavisni prediktori KV mortaliteta izdvojili lnBNP ($p < 0.005$), aortne kalcifikacije ($p = 0.005$), TnT ($p < 0.05$) i nivo ureje ($p < 0.05$). Multivarijantna Cox regresiona analiza je također otkrila da nezavisnu prediktivnu vrednost za neželjene KV događaje imaju lnBNP ($p = 0.001$), E¹/A¹ ($p < 0.01$), BMI ($p < 0.05$) i starost ($p < 0.05$), dok se kao značajni prediktori progresije HBB pojavljuju samo vrednost serumskog kreatinina i nivo Hb.

Prema prikazanim rezultatima, nivo ureje u serumu je značajan nezavisan prediktor ukupnog i KV mortaliteta kod asimptomatskih bolesnika sa IV i V stadijumom HBB. Komparativne studije indeksa bubrežne funkcije su ukazale da je ureja moćan prediktor KV ishoda i ukupnog mortaliteta kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom, nestabilnim koronarnim sindromom i infarktomiokarda, te da može služiti kao bolji prognostički marker od GFR (445-447). Iako se nekada smatralo da serumska koncentracija ureje nije dobar prediktor mortaliteta kod bolesnika na HD (448), nedavno je u kohorti od 242 bolesnika lečenih hemodijalizom otkrivena kompleksna povezanost

ureje sa mortalitetom koja se grafički prikazuje krivom U oblika, pa su se u multivarijantnoj analizi i niske i visoke vrednosti ureje pojavile kao nezavisni prediktori ukupnog mortaliteta (449).

Nivo ureje u serumu odražava balans između produkcije ureje i renalne ekskrecije. Povećanje nivoa ureje koje se vidja u stanju povećane produkcije (steroidi, visokoproteinska dijeta, gastrointestinalno krvarenje), primarno se pripisuje smanjenoj ekskreciji usled smanjene GFR. U srčanoj insuficijenciji, smanjeni minutni volumen vodi vazokonstrikciji, povećanoj reapsorpciji ureje i porastu nivoa ureje u krvi. Međutim, kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom porast ureje nije samo odraz smanjene GFR, već i izmena u balansu volumena tečnosti, neurohumoralnim aktivnostima i hemodinamici (450). Smanjenje mišićne mase i kaheksija kod bolesnika sa uznapredovalom srčanom i burežnom slabošću takodje mogu doprineti povećanju nivoa ureje. Zbog toga se ureja može shvatiti kao sveobuhvatniji marker, koji reflektujući medjuodnos između renalne i kardijalne disfunkcije, može poslužiti i kao potencijalni surogat za povećanu upotrebu lekova na koje utiče bubrežna funkcija (visoke doze diuretika ili ACE inhibitora) ili za malnutriciju. Snažna povezanost između nutritivnog statusa i mortaliteta kod bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB je dobro dokumentovana (451). Mada naši bolesnici nisu imali simptome i znake KVB, u grupi preminulih bolesnika su zabeleženi značajno lošiji parametri dijastolne funkcije LV i niže vrednosti albumina kao nutritivnog markera, dok su u univarijantnoj Cox regresionoj analizi parametri poremećene dijastolne funkcije pokazali značajnu povezanost sa ukupnim i KV mortalitetom.

U skladu sa ovim razmatranjima, u multivarijantnoj Cox regresionoj analizi niži BMI kao marker malnutricije i niži E'/A' kao marker dijastolne disfunkcije su se pokazali kao značajni nezavisni prediktori neželjenih KV događaja. Snažna prediktivna vrednost za mortalitet markera proteinsko-energetske malnutricije, kao što su niži BMI, hipoalbuminemija, niži serumski holesterol i redukovani proteinski unos potvrđena je opservacionim studijama (452). Međutim, bez obzira na razmatranje multiplih patofizioloških mehanizama, još uvek nije jasno zašto je proteinsko-energetska malnutricija, koja nije faktor rizika za KVB *per se*, u ovoj populaciji bolesnika udružena sa višim KV mortalitetom (453). S druge strane, prisustvo dijastolne disfunkcije se

često registruje već u predijaliznoj fazi HBB i saglasno sa našim rezultatima, parametri dijastolne disfunkcije izmereni tkivnim Doppler-om imaju dokazanu prediktivnu vrednost za sve uzroke mortaliteta i KV događaje (454).

Rezultati naše studije su takodje pokazali da se u multivarijantnoj Cox regresionoj analizi kalcifikacije aortnih valvula izdvajaju kao značajni nezavisni prediktori ukupnog i KV mortaliteta kod asimptomatskih predijaliznih bubrežnih bolesnika. Brojne opservacione kohortne studije su demonstrirale prognostičku važnost vaskularnih i valvularnih kalcifikacija kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB. Prisustvo i stepen vaskularnih kalcifikacija procenjenih običnom radiografijom u karotidnim arterijama, abdominalnoj aorti i ileofemoralnoj osovini kod ovih bolesnika pokazali su se kao snažni prediktori ukupnog i KV mortaliteta (455). Primenom MSCT koja dozvoljava kvantifikovanje kalcifikacija, Block i saradnici su demonstrirali značajan efekat CAC skora (CAC - sadržaj kalcijuma u koronarnim arterijama) na mortalitet kod incidentnih bolesnika na HD (456). Srčane valvularne kalcifikacije detektovane ehokardiografijom takodje predviđaju ukupni mortalitet i KV smrt kod bolesnika na hroničnoj PD. Studija Wang-a i saradnika je pokazala sličnu stopu ukupne i KV smrti medju bolesnicima sa valvularnim kalcifikacijama i aterosklerotičnom vaskularnom bolešću, sugerišući da su valvularne kalcifikacije verovatno surogatni marker vaskularne bolesti (352). Isti autori su pokazali da bolesnici u V stadijumu HBB sa kalcifikovanim valvulama imaju značajno povećanje DIM i češće kalcifikacije karotidnih arterija (457). Nedavno je Bellasi sa saradnicima objavio da su kalcifikacije srčanih valvula usko povezane sa vaskularnim kalcifikacijama kod bolesnika na HD, potvrđujući na taj način da se radi o zajedničkim patogenetskim mehanizmima (458).

U našoj studiji, na udruženost valvularnih i vaskularnih kalcifikacija kod bolesnika u IV i V stadijumu HBB upućuje povezanost DIM karotidnih arterija, kalcifikovanih karotidnih plakova i valvularnih kalcifikacija sa ukupnim mortalitetom, odnosno DIM karotidnih arterija i valvularnih kalcifikacija sa KV mortalitetom u univarijantnoj Cox regresionoj analizi. Medjutim, u multivarijantnom Cox regresionom modelu, nezavisni prediktivni značaj za ukupni i KV mortalitet zadržale su samo aortne kalcifikacije. Prognostički značaj aortnih kalcifikacija može se objasniti hemodinamskim razlozima, zbog kojih kalcifikacije aortnih veluma i aortnog prstena u uslovima sekundarnog

hiperparatireodizma koji prati HBB, dovode do progresivnog razvoja aortne stenoze, opterećenja LV pritiskom i razvoja koncentrične LVH (459-460).

5.4.1.1. Natriuretski peptidi

Sposobnost BNP-a i NT proBNP-a za predviđanje mortaliteta i neželjenih KV događaja u populaciji bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB koji su lečeni HD ili PD dokazana je u brojnim studijama (16-18, 96, 146, 148, 159, 161-163). Međutim, i danas imamo disproporcionalno manji broj studija koje se bave ispitivanjem prognostičke vrednosti natriuretskih peptida u ranijim stadijumima HBB. U našoj studiji, koja je obuhvatila bolesnike sa IV i V stadijumom HBB pre početka dijaliznog lečenja, mi smo potvrdili u univarijantnim regresionim modelima da su natriuretski peptidi u ovoj grupi bolesnika takodje povezani sa ukupnim i KV mortalitetom, kao i sa neželjenim KV događajima. U multivarijantnim regresionim modelima, lnNT-proBNP je pokazao nezavisni prognostički značaj za ukupni mortalitet (Odds ratio: 2.249; 95% CI: 1.364-4.766), dok je lnBNP pokazao nezavisni prognostički značaj za KV mortalitet (Odds ratio: 6.300; 95% CI: 1.809-21.935) i neželjene KV događaje (Odds ratio: 17.56; 95% CI: 3.034-101.640).

U jednoj od pionirskih studija koje su ispitivale dijagnostički i prognostički značaj natriuretskih peptida u populaciji predijaliznih bolesnika, Takami i saradnici su pokazali da visoki nivo BNP-a (≥ 150 pg/ml) ima snažan prediktivni potencijal za srčanu insuficijenciju (14). Nakon toga, Carr i saradnici su procenjivali potencijal NT-proBNP-a u predviđanju rizika od KV događaja, ukupnog mortaliteta i progresije ka terminalnom stadijumu HBB u kohorti od 83 bolesnika bez kliničkih dokaza srčane insuficijencije. Regresiona analiza je pokazala da su NT-proBNP i preegzistentna KVB nezavisni prediktori ukupnog mortaliteta ili KV događaja, a analizom ROC krive je dobijena visoka senzitivnost i negativna prediktivna vrednost (100%) NT-proBNP-a, što dozvoljava selekciju bolesnika koji se mogu sa sigurnošću isključiti iz daljih dijagnostičkih postupaka (461). Naši rezultati su potvrdili visoku senzitivnost i specifičnost BNP-a u predviđanju KV mortaliteta (za cut off vrednost 221 pg/ml, specifičnost je bila 78%, a senzitivnost 85.7%, AUC 0.831) i neželjenih KV događaja (za cut off vrednost od 210 pg/ml, specifičnost je bila 80.4%, a senzitivnost 81.8%, AUC 0.887), ukazujući na potencijalnu korist od merenja BNP-a u stratifikaciji KV

rizika asimptomatskih predijaliznih bolesnika. Ispitivanjem asimptomatskih bolesnika sa III i IV stadijumom HBB, Tagore i saradnici su pronašli inverznu nezavisnu korelaciju izmedju GFR i NT-proBNP-a, ali ne i BNP-a, te su stoga zaključili da u ovoj populaciji bolesnika BNP može biti prikladniji marker kardijalne disfunkcije od NT-proBNP-a (388).

Nedavno su objavljeni rezultati velike japanske prospektivne studije koja je istraživala da li BNP može biti pouzdani biomarker budućih KV događaja u kohorti bolesnika sa blago oštećenom renalnom funkcijom, koja je selektovana iz opšte populacije. U istraživanju koje je obuhvatilo 13526 osoba, HBB je definisana na osnovu GFR <60 ml/min i proteinurije, a BNP je pružio snažnu prognostičku informaciju o nastupajućim KV događajima i kvalifikovao se kao potencijalno orudje u stratifikaciji rizika ovih bolesnika (462). Slično nalazima u opštoj populaciji, Zhou i saradnici su u grupi predijaliznih bolesnika sa težim stepenom HBB (medijana GFR 28.82 ml/min/1.73m²) dokazali povezanost povećanog nivoa BNP-a sa aterosklerozom i ishemijskim KV događajima (463). Komparativnom analizom BNP-a i NT-proBNP-a u grupi bolesnika sa umerenom renalnom disfunkcijom (n=171, GFR= 41 ml/min), Austin i saradnici su dokazali da su oba peptida moćno orudje u predviđanju mortaliteta i hospitalizacija indikovanih kardijalnim razlozima (464). Horii i saradnici su u svom najnovijem radu ispitali koji od natriuretskih peptida je prikladniji biomarker za predviđanje KV događaja kod 1083 bolesnika sa teškom renalnom disfunkcijom i KVB. Oni su definisali 2 ishoda: ukupni mortalitet i kombinovane ciljne događaje kojim su obuhvatili sve uzroke smrti, nefatalni akutni infarkt miokarda, početak dijalize i hospitalizacije zbog teške srčane insuficijencije, i zaključili da su i BNP i NT-proBNP korisni prognostički biomarkeri za mortalitet i KV događaje. Medjutim, na osnovu izdvojene analize ROC kriva za ukupni mortalitet i kombinovane ciljne događaje u grupi bolesnika sa GFR <30 ml/min/1.73m² i u grupi sa GFR ≥30 ml/min/1.73m², oni su pokazali da je NT-proBNP ipak superiorniji od BNP-a kada je reč o bolesnicima sa težim stepenom renalne disfunkcije (465). U našem istraživanju, NT-proBNP je pokazao nezavisnu prognostičku vrednost za ukupni mortalitet (cut off 992 pg/ml, sa specifičnošću 62.8% i senzitivnošću 61.1%, AUC 0.732), ali ne i za KV mortalitet i neželjene KV događaje.

Mnogo veći broj studija je objavljen poslednjih godina o prognostičkoj sposobnosti natriuretskih peptida kod bolesnika koji su već započeli lečenje nekom od metoda za zamenu bubrežnu funkcije (159, 418, 466-471). Svenssen i saradnici su saopštili da, uprkos generalno povišenom nivou NT-proBNP-a, NT-proBNP ostaje nezavisni prediktor mortaliteta u grupi bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB i sa dokumentovanim KVB (467). Guo i saradnici su otkrili povezanost između NT-proBNP-a i proteinsko-energetske malnutricije, koja može delimično poslužiti kao objašnjenje za snažnu vezu NT-proBNP-a i mortaliteta kod bolesnika na HD (468). Komparativna analiza BNP-a, NT-proBNP-a i MD-proANP-a (MD, mid-regional) je pokazala sličnu prognostičku vrednost za ukupni mortalitet stabilnih bolesnika na HD (469), dok je komparativna analiza BNP-a i NT-proBNP-a kod bolesnika na visokoprotočnoj HD i HDF potvrdila da su oba markera nezavisni prediktori preživljavanja sa sličnim karakteristikama ROC kriva (470). Zajednički nedostatak ovih studija je odsustvo ehokardiografske procene, s obzirom da je u brojnim prethodnim studijama potvrđena snažna korelacija oba natriuretska peptida sa funkcijom LV i LVH.

Zato su Takase i saradnici inicijalno određivali vrednosti BNP-a i ehokardiografski procenjivali dijastolnu funkciju LV u grupi od 98 stabilnih bolesnika na HD sa normalnom sistolnom funkcijom, koje su zatim pratili tokom naredne 2 godine za neželjene KV događaje. Rezultati univarijantne Cox proporcionalne regresione analize su potvrdili njihovu hipotezu da dijastolna disfunkcija LV i nivo BNP-a predstavljaju značajne prediktore KV događaja (420). Upadljivo interesovanje izazvala je nedavna studija Panigua-a i saradnika, koji su tokom 16 meseci pratili 753 bolesnika na kontinuiranoj ambulatornoj PD, automatskoj PD i HD, i pokazali u multivarijantnoj analizi da su NT-proBNP i ekspanzija ekstracelularnog volumena značajni prediktori ukupnog i KV mortaliteta, nezavisno od dijaliznog modaliteta i prisustva drugih kliničkih i biohemijskih faktora rizika (471). Autori su kao prognostički marker u ovoj studiji izabrali NT-proBNP, prihvatajući argumente da on ima blagu prednost u predviđanju smrti i re-hospitalizacija zbog srčane insuficijencije nad BNP-om (472-473). Objasnjeno se nalazi u dužem poluživotu NT-proBNP-a koji ga čini preciznijim indeksom ventrikularnog stresa i stoga boljim prediktorom prognoze, dok duži

poluživot i veličina molekula olakšavaju merenje i čine ga manje zavisnim od akutnih promena koje utiču na koncentracije drugih natriuretskih peptida (471, 474-475).

5.4.1.2. Srčani troponini

Prediktivna vrednost srčanih troponina kod bolesnika sa HBB za ukupni mortalitet, KV mortalitet i KV događaje opisana je u brojnim studijama, mnogo češće kod bolesnika koji su započeli lečenje dijalizom nego u ranijim stadijumima bubrežne slabosti, i mnogo češće za TnT nego za TnI (6, 196-199, 204, 208-209, 218-223, 476-478). U našoj studiji, kod asimptomatskih bolesnika u predijaliznoj fazi HBB TnI nije pokazao povezanost sa ukupnim mortalitetom, niti sa KV ishodom. Za razliku od TnI, u univarijantnoj regresionoj analizi TnT je bio povezan sa ukupnim mortalitetom ($p < 0.05$), KV mortalitetom ($p < 0.01$) i neželjenim KV događajima ($p = 0.001$), iako je u multivarijantnoj Cox proporcionalnoj regresionoj analizi TnT ispoljio nezavisnu prognostičku vrednost samo za KV mortalitet.

Većina autora se slaže da postoji razlika u prognostičkoj vrednosti TnT i TnI kada je reč o asimptomatskim bolesnicima sa HBB, mada ima i drugačijih stavova. Preovladjuju studije koje su potvrdile prognostičku vrednost TnT kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom slabošću, na HD (196-199, 203, 208-209, 218-219, 223, 476), na PD (204, 477), u predijaliznoj fazi HBB (6), i nakon transplantacije bubrega (478), pri čemu su se neke od njih bavile komparativnom analizom prognostičke vrednosti TnT i TnI (204, 219). Daleko manji broj studija se bavio samo ispitivanjem prognostičke vrednosti TnI, i to sa negativnim ili nedovoljno statistički potkrepljenim rezultatima (220-221, 479). Tako su Khan i saradnici pratili grupu od 126 bolesnika na HD tokom 2 godine, i nisu uspeali da pronadju povezanost nivoa TnI sa ukupnim mortalitetom, KV mortalitetom, ukupnim i kardijalno indikovanim hospitalizacijama (220). Medjutim, Stoffel i saradnici su došli do drugačijih zaključaka. Oni su ispitivanjem bolesnika na HD, grupe od 25 bolesnika sa HBB i grupe od 9 sa akutnom bubrežnim oštećenjem, u prvoj grupi otkrili 3 bolesnika sa pozitivnim TnI, a u drugoj grupi jednog bolesnika. Tokom jednogodišnjeg praćenja, od prva 3 bolesnika jedan je umro od infarkta miokarda, drugi je podvrgnut koronarnoj intervenciji i treći nije razvio simptomatsku KVB, dok je bolesnik sa akutnom bubrežnim oštećenjem i povišenim TnI preminuo od fatalnog srčanog udara. Zaključak autora o prognostičkoj vrednosti TnI za KV događaje

ograničen je malom veličinom uzorka (222). Beciani i saradnici su pratili grupu asimptomatskih bolesnika na HD bez koronarne arterijske bolesti (n=101), periodičnim merenjem TnI tokom narednih godinu dana i beleženjem akutnih koronarnih događaja. Od 14 bolesnika koji su imali TnI ≥ 0.15 ng/ml akutni kardijalni događaji su zabeleženi kod 9, dok je od 72 bolesnika sa nižim nivoom TnI samo 7 imalo akutne događaje. U grupi od 15 bolesnika sa varijabilnim nivoom TnI, 3 bolesnika su imala kardijalne događaje. Na osnovu prikazanih rezultata, autori smatraju da bi TnI mogao biti koristan prediktor KV događaja kod asimptomatskih bolesnika na HD, ali ovaj zaključak nije potkrepljen validnim statističkim metodama (Cox proporcionalna regresiona analiza) (221).

Nedavno objavljene studije, koje su se bavile komparativnom analizom prognostičke vrednosti TnI i TnT kod bolesnika sa HBB, takodje nisu saopštile rezultate koje bi podržale izvodjenje konzistentnih zaključaka. U studiji Petrovića i saradnika, koja je obuhvatila 115 bolesnika na HD, bolesnici sa nivoom TnT >0.1 ng/ml i nivoom TnI >0.15 ng/ml imali su značajno nižu stopu ukupnog i KV preživljavanja, što saglasno nekim ranijim nalazima (Wayand D, Apple FS) ukazuje da su oba srčanina troponina značajni prediktori ishoda (200, 202, 480). U jednoj od poslednjih objavljenih studija, Kalaji i saradnici su pratili prognostički značaj TnT i TnI za ukupni mortalitet kod 145 asimptomatskih bolesnika na HD (medijana praćenja 551 dan). Za razliku od TnI, povišeni nivo TnT je bio udružen sa povećanim mortalitetom, mada se značajnost nije održala posle prilagođavanja za druge faktore rizika. Autori su zaključili da bi povećani nivo TnT, ali ne i TnI, mogao biti udružen sa lošom prognozom (481). U jednoj od retkih studija koje su uključile bolesnike u predijalnoj fazi HBB baveći se komparativnom analizom karakteristika i prognostičkog značaja TnI merenog ultrasenzitivnim testom, TnI merenog standardnim testom i TnT, Lamb i saradnici su pronašli sličnu prevalenciju povišenih vrednosti za TnT (43%) i TnI (33%) ukoliko se koristi senzitivniji test. Iako su povišene koncentracije svih merenih troponina bile povezane sa smanjenim preživljavanjem, samo je koncentracija TnT bila nezavisno povezana sa ukupnim mortalitetom (482).

Poslednjih godina je objavljeno nekoliko studija koje su istraživale značaj kombinovane upotrebe kardijalnih biomarkera za predikciju ishoda kod bolesnika sa HBB. Zbog

veličine uzorka vrlo je značajna nedavno objavljena studija Scheven-a i saradnika, koja je uključila 8121 osobu iz PREVEND (the Prevention of REnal and Vascular ENd stage Disease) studije sa blagim renalnim oštećenjem (I-III stadijum HBB). Rezultati ove studije pokazali da nalaz povećanih vrednosti visoko senzitivnog TnT i NT-proBNP-a u ovoj populaciji treba shvatiti ozbiljno, jer su oba markera udružena sa KV događajima, i ta povezanost ostaje značajna posle prilagođavanja za GFR, albuminuriju, starost, pol i konvencionalne faktore rizika (483). Medjutim, u studiji Hallen-a i saradnika koja je istraživala relativni prognostički doprinos CRP-a, TnT i NT-proBNP-a u predikciji ukupnog mortaliteta kod bolesnika na HD, samo su povećane vrednosti TnT i CRP-a u multivarijantnoj analizi ostale nezavisno povezane sa mortalitetom. Dodavanje TnT i CRP-a već ustanovljenim faktorima rizika značajno poboljšava prognostičku moć modela, pa se ovi markeri mogu koristiti u kombinaciji za stratifikaciju rizika kod bolesnika na HD (484). Za razliku od ove i nekih drugih studija (18, 209), ali u skladu sa rezultatima Wang-a i saradnika (477), hsCRP u našoj studiji nije pokazao vrednost u predviđanju ukupnog i KV mortaliteta, kao ni neželjenih KV događaja. Medjutim, naša studija je proučavala stabilne bolesnike u IV i V stadijumu HBB, asimptomatske za prisustvo KVB, dok su navedene studije obuhvatile bolesnike koji su lečeni nekom od metoda za zamenu bubrežne funkcije. Kod bolesnika lečenih hemodijalizom ili peritoneumskom dijalizom, CRP se može povećavati kao rezultat hronične infekcije, dijalize ili malnutricije (485), kao i vaskularne inflamacije ili oštećenja miokarda. Nasuprot tome, TnT predstavlja visoko specifični i senzitivni marker oštećenja miokarda. Takodje, kardiovaskularna kongestija može povećati nivo TnT, ali je malo verovatno da će izazvati povećanje nivoa CRP-a (486). Prema mišljenju Wang-a i saradnika, ovi razlozi sa dovoljno ubedljivosti objašnjavaju odsustvo prediktivne vrednosti CRP-a za KV događaje kod bolesnika na PD, koje su oni prikazali u svojoj studiji (477). Osim rezultata, za njihovu i našu studiju je zajednički i relativno veliki broj kovariata koje su razmatrane u multivarijantnoj analizi za ishod, u odnosu na relativno mali broj događaja.

Grupa autora koja je, slično nama, pratila prognostičku vrednost čitavog panela kardijalnih biomarkera (TnT, TnI, BNP, NT-proBNP i CRP) za ukupni mortalitet u grupi bolesnika sa terminalnim stadijumom HBB (n=143, 112 na HD, 31 na PD), dosad je publikovala dva rada sa zanimljivim rezultatima. U prvom radu je univarijantnom

analizom potvrđena povezanost svih biomarkera sa mortalitetom, ali su posle medijane praćenja od 30 meseci u Cox proporcionalnoj hazard analizi samo albumin i NT-proBNP zadržali značajnu nezavisnu prediktivnu vrednost za ukupni mortalitet (487). Medjutim, posle medijane praćenja iste grupe bolesnika od 46.7 meseci, autori su otkrili da je samo visokosenzitivni TnT ostao nezavisni prediktor mortaliteta (488). Ove studije nagoveštavaju da kardijalni biomarkeri imaju različitu prognostičku sposobnost za različite vremenske okvire, tako da je NT-proBNP bolji prediktor ranog mortaliteta, a visokosenzitivni TnT kasnog mortaliteta. Ograničenja publikovanih radova se odnose na mali uzorak studijske populacije i odsustvo pouzdanih ehokardiografskih podataka koji bi možda pružili bolje razumevanje drugačije prediktivne vrednosti dva biomarkera za različite vremenske periode (487-488).

5.4.2. PROGRESIJA HRONIČNE BUBREŽNE BOLESTI

HBB je stanje koje se karakteriše progresivnim i ireverzibilnim propadanjem bubrežne funkcije, a dobro utemeljeni faktori rizika za progresiju HBB obuhvataju tip osnovne bubrežne bolesti, etničku pripadnost, pol, starost, bazalni nivo bubrežne funkcije, krvni pritisak, kontrolu glikemije kod dijabetičara, stepen proteinurije, koncentraciju serumskih albumina, pušenje, dislipidemiju i anemiju (26, 489). Prema našem saznanju, mali broj objavljenih radova istražuje prognostički potencijal kardijalnih biomarkera za progresiju ka terminalnom stadijumu HBB i oni su isključivo usmereni na natriuretske peptide (461, 490-492). Natriuretski peptidi su pouzdani markeri kongestivne srčane insuficijencije (11-12, 387), ali se njihov nivo takodje povećava kod bolesnika sa renalnom disfunkcijom gde značajno korelira sa GFR, bez obzira na prisustvo ili odsustvo srčane insuficijencije (13, 141, 151, 393). U kardiorenalnom sindromu, povećane koncentracije natriuretskih peptida u cirkulaciji se mogu posmatrati kao odraz homeostatskog odgovora srca na poremećenu bubrežnu funkciju, te se tako može objasniti njihova uloga kao markera ubrzane progresije i srčane i bubrežne slabosti. Medjutim, nejasno je da li povećane koncentracije natriuretskih peptida mogu predvideti progresiju bubrežne slabosti kod stabilnih bolesnika sa IV-V stadijumom HBB, koji nemaju simptome i znake KVB.

Tokom perioda praćenja, od 61 bolesnika sa HBB koji su bili uključeni u našu studiju kod 34 je došlo do progresije HBB, definisane kao dupliranje serumskog kreatinina ili

započinjanje lečenja jednom od metoda za zamenu bubrežnu funkcije. Univarijantnom Cox regresionom analizom kao pojedinačni faktori značajni za progresiju HBB identifikovani su hemoglobin, serumski kreatinin, urea, klirens kreatinina, nivo TnI, TnT i lnNT-proBNP, ali u multivarijantnom modelu Cox regresione analize nezavisnu prediktivnu vrednost pokazali su samo nivo Hb i serumskog kreatinina.

Ispitujući prognostički potencijal NT-proBNP-a za progresiju ka terminalnom stadijumu HBB (dupliranje serumskog kreatinina ili započinjanje dijaliznog lečenja) u kohorti od 83 bolesnika bez kliničkih dokaza srčane insuficijencije, Carr i saradnici su pokazali značajno više nivoe NT-proBNP-a kod bolesnika sa ubrzanom progresijom HBB u poredjenju sa ostalim bolesnicima. Kako je ovo bio sekundarni cilj studije, nije uradjena univarijantna i multivarijantna Cox regresiona analiza, ali su rezultati dali ohrabrujući podsticaj za daljih istraživanja (461). Ubrzo potom su Spanaus i saradnici sproveli prospektivnu multicentričnu studiju u kojoj su istraživali značaj BNP-a i NT-proBNP-a kao prediktora progresije HBB (dupliranje serumskog kreatinina ili započinjanje dijaliznog lečenja) u grupi od 227 bolesnika sa blagom do umerenom bubrežnom slabošću. Oni su zaključili da povećane koncentracije oba peptida ukazuju na veći rizik od ubrzane progresije HBB, iako je nakon prilagodjavanja za poznate faktore rizika ostao samo NT-proBNP kao značajni nezavisni prediktor kombinovanog renalnog ishoda (490). Nedavno je Locatelli sa saradnicima saopštio da je viši nivo NT-proBNP-a kod bolesnika sa III-IV stadijumom HBB i blagom do umerenom anemijom udružen sa višim rizikom KV događaja i ubrzanom progresijom ka terminalnoj fazi HBB (491). Poslednja i najveća prospektivna studija o prognostičkom uticaju BNP-a na dugoročnu bubrežnu prognozu, sprovedena je u grupi od 508 bolesnika sa III, IV i V stadijumom HBB i pokazala da je povećanje nivoa BNP-a snažni i nezavisni prediktor ubrzane progresije do krajnjeg stadijuma bubrežne slabosti (492).

Od navedenih studija, samo je studija Carr-a i saradnika isključila bolesnike sa srčanom insuficijencijom ili preegzistentnom KVB (461), dok u ostalim studijama prisustvo KVB nije bio kriterijum za isključivanje (490-492). Nijedna od navedenih studija nije raspolagala podacima o ehokardiografskoj proceni geometrije i funkcije LV. Ovo je značajno, jer su prevalencija koronarne arterijske stenozе i LVH vrlo visoke kod bolesnika sa HBB (13, 493-494). Takodje je često prisutno subkliničko oštećenje

miokarda usled tihe ishemije ili mikroinfarkta, kao i blaga srčana insuficijencija (176, 495). Sa druge strane, progresija HBB *per se* je udružena sa pogoršanom regulacijom soli i ekspanzijom ekstracelularnog volumena usled snižene GFR (496). Opterećenje srca volumenom nosi snažan rizik od kongestivne srčane insuficijencije, i stoga je moćna determinanta otpočinjanja dijalizne terapije. Povećana aktivnost renin-angiotenzin-aldosteron sistema u HBB i čak u vrlo ranoj, klinički asimptomatskoj fazi hronične srčane insuficijencije, može uticati na koncentracije BNP-a i NT-proBNP-a. Pored aktivacije renin-angiotenzin sistema, i hiperaktivnost drugih neurohumoralnih mehanizama (sekrecija endotelina, simpatička nervna aktivnost) u uslovima hipervolemije doprinosi oslobađanju B-tipa natriuretskih peptida iz kardiomiocita, koji se potom svojim fiziološkim dejstvima suprotstavljaju retenciji vode i soli (497-499). Iz fiziološke perspektive, povećane koncentracije BNP-a i NT-proBNP-a u bubrežnoj insuficijenciji ne odražavaju samo sniženu GFR, već i kontraregulatorni odgovor srca na promene u hemodinamici i homeostazi telesnih tečnosti. Stoga se BNP i NT-proBNP mogu posmatrati kao markeri kardiorrenalnog sindroma, patofiziološkog stanja koje amplifikuje progresiju srčane i bubrežne slabosti, ubrzano vodeći terminalnom stadijumu HBB i kongestivnoj srčanoj insuficijenciji (500).

Za razliku od prethodnih studija, u naše istraživanje su bili uključeni samo stabilni bolesnici sa IV i V stadijumom HBB, koji prethodno nisu bili lečeni od KVB, i koji nisu imali simptome i znake srčane insuficijencije ili koronarne bolesti. Zatim, svi naši bolesnici su imali bazalnu ehokardiografsku procenu strukture i funkcije LV, pa smo u multivarijantni Cox regresioni model za predviđanje progresije HBB uključili sve demografske, kliničke, laboratorijske i ehokardiografske parametre koji su se pokazali značajnim u univarijantnoj analizi. Selekcija bolesnika i komplikovani međusobni odnosi nivoa kardijalnih biomarkera, GFR, LVH, i dijastolne disfunkcije mogu objasniti izostanak nezavisne prediktivne vrednosti NT-proBNP-a u multivarijantnoj analizi i činjenicu da su se kao nezavisni prediktori progresije HBB izdvojili samo klasični prediktori bubrežne prognoze: bubrežna funkcija izražena serumskim kreatininom i anemija (501-502). Medjutim, interpretacija ove studije je ograničena malom veličinom uzorka, što zajedno sa niskom stopom kliničkih događaja, može rezultirati u smanjenoj statističkoj snazi testa i smanjenoj pouzdanosti izvedenih zaključaka.

6. ZAKLJUČAK

Kardiovaskularni status bolesnika sa IV i V stadijumom HBB

- Ehokardiografskim pregledom je ustanovljeno da asimptomatski bolesnici sa IV i V stadijumom HBB u odnosu na kontrolnu grupu imaju značajno veće prosečne vrednosti sledećih strukturnih parametara: LA ($p=0.007$), PWT ($p=0.000$), IVST ($p=0.000$), LVmass ($p=0.002$), LVMI ($p=0.000$), kao i RWT ($p=0.000$). U ispitivanoj grupi LVH je bila prisutna kod 91.8% bolesnika i to: koncentrična kod 36.1%, a ekscentrična kod 55.7% bolesnika.
- Od parametara sistolne funkcije, samo je TDI parametar V's bio blago snižen ($p<0.05$) u bolesničkoj grupi u odnosu na kontrolnu. Snižena EF ($<55\%$) zabeležena je 12 (19.7%) bolesnika, koji su imali sistolnu disfunkciju blagog ili umerenog stepena.
- Od parametara dijastolne funkcije, u bolesničkoj grupi su izmerene značajno niže vrednosti E's ($p<0.001$), E'l ($p<0.05$) i Vp ($p<0.01$) nego u kontrolnoj grupi, dok su izračunate vrednosti odnosa E/E', kao indikatora pritiska punjenja leve komore, bile značajno više ($p<0.001$). Dijastolna disfunkcija, definisana kao E's <8 cm/sec, zabeležena je kod 37 (60.6%) bolesnika sa HBB.
- Valvularne kalcifikacije, kako mitralnih ($p<0.01$), tako i aortnih zalistaka ($p<0.01$), bile su značajno češće u grupi asimptomatskih bubrežnih bolesnika nego u kontrolnoj grupi.
- Izmerene vrednosti DIM na karotidnim arterijama bile su prosečno veće u grupi bolesnika nego u kontrolnoj grupi, i to sa visokom statističkom značajnošću ($p<0.001$). Učestalost aterosklerotičnih plakova nije se značajno razlikovala između 2 grupe, ali su kalcifikovani plakovi karotidnih arterija registrovani sa značajno većom učestalošću u bolesničkoj nego u kontrolnoj grupi ($p<0.01$).
- Asimptomatski bolesnici sa HBB imali su više prosečne vrednosti svih kardijalnih biomarkera u odnosu na kontrolnu grupu, i to sa sledećom statističkom značajnošću: hsCRP-a ($p<0.05$), BNP-a ($p<0.01$), NTproBNP-a ($p<0.001$), TnT-a ($p<0.001$) i TnI-a ($p<0.01$).

Determinante nivoa kardijalnih biomarkera kod bolesnika sa IV i V stadijumom HBB

- Kao statistički značajni faktori za nivo lnhsCRP u multivarijantnoj linearnoj regresionoj analizi izdvojili su se DIM karotidnih arterija ($p=0.001$), zasićenje transferina ($p=0.001$), brzina sedimentacije eritrocita ($p<0.01$) i broj leukocita ($p<0.05$). Koeficijent determinacije regresionog modela iznosio je 0.508, što ukazuje da je oko 51 % varijabiliteta ishodne varijable lnhsCRP objašnjeno variranjem ovih regresora.
- Kao statistički značajni regresori za nivo lnBNP-a, izdvojili su se parametri tkivnog Doppler-a A's ($p=0.005$) i E/E'a ($p<0.05$), kao i klinički parametri: godine starosti ($p<0.05$), BMI ($p=0.005$) i proteinurija ($p<0.05$). Koeficijent determinacije regresionog modela ($R^2=0.632$) ukazuje da se oko 63 % varijabiliteta lnBNP može objasniti variranjem ovih regresora.
- Kao statistički značajni regresori za nivo lnNT-proBNP-a, od ehokardiografskih parametara izdvojili su se FS ($p<0.001$), odnos E/E's ($p<0.01$) kao pokazatelj pritiska punjenja leve komore i dimenzije leve pretkomore (LA, $p<0.05$), a od laboratorijskih parametara ukupni holesterol ($p<0.001$) i nivo hemoglobina ($p<0.01$). Koegzistencijom ovih faktora može se objasniti oko 53% varijabiliteta lnNT-proBNP-a.
- Statistički značajan uticaj na nivo TnI ostvarili su strukturni parametri leve komore, IVSTd ($p<0.001$) i LVESD ($p<0.05$), MPI kao kombinovani indeks sistolne i dijastolne funkcije leve komore ($p<0.05$) i VLDL holesterol ($p<0.05$), čijom koegzistencijom se objašnjava oko 38% varijabiliteta ishodne varijable TnI.
- Statistički značajan uticaj na nivo TnT ostvarili su nivo hematokrita ($p<0.05$), nivo alkalne fosfataze ($p<0.001$) i A'l ($p<0.05$), kao parametar dijastolne funkcije leve komore. Njihovom koegzistencijom može se objasniti oko 50% varijabiliteta ishodne varijable TnT.

Prognostički značaj kardijalnih biomarkera u grupi asimptomatskih bolesnika sa HBB

- U našoj studiji, kao nezavisni prediktori ukupnog mortaliteta dobijeni multivarijantnom Cox regresionom analizom, izdvojile su se sledeće varijable: prisustvo aornih kalcifikacija ($p < 0.001$), lnNT-proBNP ($p < 0.01$) i vrednost ureje u serumu ($p < 0.01$). Optimalna cut off vrednost NT-proBNP-a za predviđanje ukupnog mortaliteta bila je 992 pg/ml, sa specifičnošću 62.8% i senzitivnošću 61.1% (AUC=0.732; $p=0.005$).
- Kao nezavisni prediktori kardiovaskularnog mortaliteta izdvojili su se: prisustvo aornih kalcifikacija ($p < 0.01$), lnBNP ($p < 0.01$), vrednosti TnT ($p < 0.05$) i vrednost ureje u serumu ($p < 0.05$). Optimalna cut off vrednost BNP-a za predviđanje kardiovaskularnog mortaliteta iznosila je 220.8 pg/ml, sa senzitivnošću 85.7% i specifičnošću 78% (AUC= 0.831; $p=0.005$). Cut off vrednost TnT 0.05 ng/ml se pokazala takodje značajnom za kardiovaskularni mortalitet, sa senzitivnošću 77.8% i specifičnošću 78.8% (AUC=0.798; $p=0.005$).
- Nezavisnu prediktivnu vrednost za neželjene kardiovaskularne događaje u našoj studiji pokazali su: lnBNP ($p=0.001$), odnos E'1/A'1 ($p < 0.01$), starije životno doba ($p < 0.05$) i niži BMI ($p < 0.05$). U predviđanju kardiovaskularnih događaja, za BNP dobijena je optimalna cut off vrednost 210 pg/ml, sa senzitivnošću 81.8% i specifičnošću 80.4% (AUC= 0.887; $p=0.000$).
- U multivarijantnom modelu Cox regresione analize, kao nezavisni prediktori progresije HBB ka terminalnom stadijumu izdvojili su se jedino serumski kreatinin ($p=0.001$) i nivo hemoglobina ($p < 0.01$).
- Stratifikovana analiza Kaplan-Meyer-ovih kriva preživljavanja u bolesničkoj grupi pokazala je značajnu razliku u odnosu na nivo kardijalnih biomarkera za ukupni mortalitet (NT-proBNP, $p < 0.05$; TnT, $p < 0.05$), kardiovaskularni mortalitet (BNP, $p < 0.05$; NT-proBNP, $p < 0.05$; TnT, $p=0.001$), i neželjene kardiovaskularne događaje (BNP, $p < 0.01$; NT-proBNP, $p < 0.01$; TnT, $p < 0.001$).

Rezultati našeg istraživanja ukazuju da su brojne kardiovaskularne abnormalnosti (LVH, dijastolna disfunkcija, kalcifikacije srčanih valvula, zadebljala intima-medija karotidnih arterija i prisustvo kalcifikovanih plakova) u značajnoj meri zastupljene već kod asimptomatskih bolesnika sa HBB u predijaliznom periodu. U našoj studiji, nivo svih kardijalnih biomarkera bio je značajno viši kod bubrežnih bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu i povezan sa kardiovaskularnim abnormalnostima strukture i funkcije leve komore koje su detektovane ehokardiografskim pregledom (BNP, NT-proBNP, TnI, TnT) ili sa ehosonografskim parametrima karotidne ateroskleroze (hsCRP). Natriuretski peptidi (BNP, NT-proBNP) i TnT, zajedno sa kliničkim i ehokardiografskim parametrima, pokazali su značajnu prediktivnu vrednost za ukupni mortalitet, kardiovaskularni mortalitet i/ili neželjene kardiovaskularne događaje. Stoga oni mogu poslužiti kao koristan alat u stratifikaciji kardiovaskularnog rizika u grupi predijaliznih bolesnika sa HBB. Identifikacija podgrupe asimptomatskih bolesnika sa većim kardiovaskularnim rizikom pomogla bi da se usmeri pažnja na njihovo striktno praćenje, pravovremenu korekciju tradicionalnih i netradicionalnih faktora rizika, izbor daljih dijagnostičkih postupaka i terapijskih strategija, a sa konačnim ciljem da se smanji visoki kardiovaskularni morbiditet i mortalitet koji karakteriše terminalni stadijum HBB.

7. LITERATURA

1. US Renal Data System, USRDS 2003 annual data report: Atlas of end-stage renal disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2003.
2. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined - a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 959-969
3. Heidenreich PA, Alloggiamento T, Melsop K, McDonald KM, GoAS, Hlatky MA, et al. The prognostic value of troponin in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 478-485
4. Watnick S, Perazella AM. Cardiac Troponins: Utility in Renal Insufficiency and End-Stage Renal Disease. *Seminars in Dialysis* 2002; 15: 66-70
5. Badero JO, Salifu OM. Prediction of Hemodynamically Significant Coronary Artery Disease Using Troponin I in Hemodialysis Patients Presenting with Chest Pain: A Case-Control Study. *Cardiology* 2009; 114: p292-297
6. Wood GN, Keevil B, Gupta J, Foley R, Bibtana A, McDowell G, et al. Serum troponin T measurement in patients with chronic renal impairment predicts survival and vascular disease: a 2 year prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1610–1615
7. Khan NA, Hemmelgarn BR, Tonelli M, Thompson CR, Levin A, et al. Prognostic value of Troponin T and I among Asymptomatic Patients With End-Stage Renal Disease: a meta-analysis. *Circulation* 2005; 112: 3088-3096
8. Arici M, Walls J. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int* 2001; 59: 407–414
9. Ateş K, Yılmaz Ö, Kutlay S, Ateş A, Nergizoğlu G, Erturk S. Serum C-reactive Protein Level is Associated with Renal Function and It Affects Echocardiographic Cardiovascular Disease in Pre-Dialysis Patients. *Nephron Clin Pract* 2005; 101: 190-197
10. Boulrier A, Jaussent I, Terrier N, Maurice F, Rivory J, Chalabi L, et al. Measurement of circulating troponin Ic enhances the prognostic value of C-

- reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2313–2318
11. de Lemos JA, Mc Guire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet* 2003; 9380: 316-322
 12. Omland T, Persson A, Ng L, O'Brien R, Karlsson T, Herlitz J, et al. N-terminal Pro-B-Type natriuretic peptide and long-term mortality in acute coronary syndrome. *Circulation* 2002; 106: 2903-2918
 13. Vickery S, Price PS, John RI, Abbas NA, Webb MC, Kempson ME, et al. B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and Amino-Terminal proBNP in Patients With CKD: Relationship to Renal Function and Left Ventricular Hypertrophy. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 610-620
 14. Takami Y, Horio T, Iwashima Y, Takiuchi S, Kamide K, Yoshihara F, et al. Diagnostic and prognostic value of plasma-brain natriuretic peptide in non-dialysis-dependent CRF. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 420-428
 15. Mark PB, Stewart GA, Gansevoort RT, Petrie CJ, McDonagh TA, Dargie HJ, et al. Diagnostic potential of circulating natriuretic peptides in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 402-410
 16. Zoccali C, Mallamaci F, Benedetto FA, Tripepi G, Parlongo S, Cataliotti A, et al. Cardiac natriuretic peptides are related to left ventricular mass and function and predict mortality in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1508-1515
 17. Madsen LH, Ladefoged S, Corell P, Schou M, Hildebrandt PR, Atar D. N-terminal pro-brain natriuretic peptide predicts mortality in patients with end stage renal disease in hemodialysis. *Kidney Int* 2007; 71: 548-554
 18. Apple FS, Murakami MAM, 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 i I in End-Stage Renal Disease for All-Cause Death. *Clin Chem* 2004; 50: 2279-2285
 19. Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malatino LS, Zoccali C. Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardial pathology in patients with ESRD. *Kidney Int* 2005; 67: 2330-2337

20. 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
21. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974; 290: 697-701
22. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: S16-S23
23. Wang AY, Wang M, Woo J, Lam CW, Lui SF, Li PK, et al. Inflammation, residual kidney function, and cardiac hypertrophy are interrelated and combine adversely to enhance mortality and cardiovascular death risk of peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2186-2194
24. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Sea MM, Lui SF, et al. Is a single time point C-reactive protein predictive of outcome in peritoneal dialysis patients? *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1871-1879
25. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1-12
26. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(2 suppl 1): S1-S266
27. Amann K, Tyralla K, Gross ML, Eifert T, Adamczar M, Ritz E. Special characteristics of atherosclerosis in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2003; 60(Suppl 1): S13-S21
28. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD. Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int* 1995; 47: 186-192
29. Levin A, Singer J, Thompson CR, Ross H, Lewis M. Prevalent left ventricular hypertrophy in the predialysis population: identifying opportunities for intervention. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 347-354

30. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med* 1998; 339: 799-805
31. Anavekar NS, McMurray JJ, Velazquez EJ, Solomon SD, Kober L, Rouleau JL, et al. Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 351: 1285-1295
32. Culeton BF, Larson MG, Wilson PWF, Evans JC, Parfrey PS, Levy D. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney Int* 1999; 56: 2214-2219
33. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351: 1296–1305
34. Weiner DE, Tighiouart H, Amin MG, Stark PC, MacLeod B, Griffith JL, et al. Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality: a pooled analysis of community based studies. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1307-1315
35. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Cardiovascular Disease in Dialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 40(Suppl 3): 8-9
36. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JFE. Chronic Kidney Disease. Effects on the Cardiovascular System. *Circulation* 2007; 116: 85-97
37. Shlipak MG, Sarnak MJ, Katz R, Fried LF, Seliger SL, Newman AB. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. *N Engl J Med* 2005; 352: 2049–2060
38. Levin A. The clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic kidney disease. Semin Dial* 2003; 16(2): 101-105
39. Uhlig K, Levey AS, Sarnak MJ. Traditional Cardiac Risk Factors in Individuals with Chronic Kidney Disease. *Semin Dial* 2003; 16(2): 118–127
40. Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1606–1615

41. Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 63: 793–808
42. Port FK, Hulbert-Shearon TE, Wolfe RA, Bloembergen WE, Golper TA, Agodoa LY, et al. Predialysis blood pressure and mortality risk in a national sample of maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 507–517
43. Iseki K, Yamazato M, Tozawa M, Takishita S. Hypcholesterolemia is a significant predictor of death in a cohort of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61: 1887–1893
44. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. Impact of hypertension on cardiomyopathy, morbidity and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1996; 49: 1379–1385
45. Kopple JD, Zhu X, Lew NL, Lowrie EG. Body weight-for-height relationships predict mortality in maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 56: 1136-1148
46. Wolff G. After all those fat years: renal consequences of obesity. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2471-2474
47. Engeli S, Schling P, Gorzelniak K, Boschmann M, Janke J, Ailhaud G, et al. The adipose tissue-renin-angiotensin-aldosterone system: role in the metabolic syndrome? *Int J Biochem Biol* 2003; 435: 807-825
48. Lowrie EG, Lew NLL. Death risk in hemodialysis patients: the predictive value of commonly measured variables and an evaluation of death rate differences between facilities. *Am J Kidney Dis* 1990; 15: 458-482
49. Anderson KM, Wilson PWF, Odell PM, Kannel WB. An updated coronary risk profile: a statement for health professionals. *Circulation* 1993; 83: 356–362
50. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002; 62: 1524–1538
51. Levin A, Thompson CR, Ethier J, Carlisle EJ, Tobe S, Mendelssohn D, et al. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 125–134

52. Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1014–1021
53. Astor BC, Muntner P, Levin A, Eustace JA, Coresh J. Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Arch Intern Med* 2002; 162: 1401-1408
54. Chen J, Muntner P, Hamm LL, Fonseca V, Batuman V, Whelton PK, et al. Insulin resistance and risk of chronic kidney disease in nondiabetic US adults. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 469-477
55. Muntner P, Hamm LL, Kusek JW, Chen J, Whelton PK, He J. The prevalence of nontraditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004; 140: 9-17
56. London GM, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, Adda H. Arterial structure and function in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1713–1724
57. London GM. Cardiovascular Disease in Chronic Renal Failure: Pathophysiologic Aspects. *Semin Dial* 2003; 16(2): 85-94
58. Schwarz U, Buzello M, Ritz E, Stein G, Raabe G, Wiest G, et al. Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 218–223
59. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 1999; 99: 2434–2439
60. Klassen PS, Lowrie EG, Reddan DN, DeLong ER, Coladonato JA, Szczech LA, et al. Association between pulse pressure and mortality in patients undergoing maintenance hemodialysis. *JAMA* 2002; 287: 1548–1555
61. Harnett JD, Foley RN, Kent GM, Barre PE, Murray D, Parfrey PS. Congestive heart failure in dialysis patients: prevalence, incidence, prognosis and risk factors. *Kidney Int* 1995; 47: 884–890
62. Katz AM. The cardiomyopathy of overload: an unnatural growth response in the hypertrophied heart. *Ann Intern Med* 1994; 121: 262–271

63. Harnett JD, Murphy B, Collingwood P, Purchase L, Kent G, Parfrey PS. The reliability and validity of echocardiographic measurements of left ventricular mass index in hemodialysis patients. *Nephron* 1993; 65: 212–214
64. Ozkahya M, Ok E, Cirit M, Aydin S, Akcicek F, Basci A, et al. Regression of left ventricular hypertrophy in haemodialysis patients by ultrafiltration and reduced salt intake without antihypertensive drugs. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1489–1493
65. London GM, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, Pannier B. Cardiac hypertrophy and arterial alterations in end-stage renal disease: Hemodynamic factors. *Kidney Int* 1993; 41(suppl): S42-S49
66. Mann JFE. What are the short-term and long-term consequences of anemia in CRF patients? *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(Suppl 2): 29-36
67. London GM, Guérin AP, Marchais SJ. Pressure-overload cardiomyopathy in end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1999; 8: 179–186
68. Matsumoto Y, Hamada M, Hiwada K. Aortic distensibility is closely related to the progression of left ventricular hypertrophy in patients receiving hemodialysis. *Angiology* 2000; 51: 933–941
69. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Parlongo S, Cutrupi S, Benedetto FA, et al. Creed Investigators: Norepinephrine and concentric hypertrophy in patients with end-stage renal disease. *Hypertension* 2002; 40: 41-46
70. London GM, Pannier B, Guerin AP, Blacher J, Marchais SJ, Darne B, et al. Alterations of left ventricular hypertrophy in and survival of patients receiving hemodialysis: follow-up of an interventional study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2759-2767
71. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Giacone G, Cataliotti A, et al. Prognostic value of echocardiographic indicators of left ventricular systolic function in asymptomatic dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1029-1037
72. Foley RN, Herzog CA, Collins AJ. Smoking and cardiovascular outcomes in dialysis patients: the United States Renal Data System Wave 2 study. *Kidney Int* 2003; 63: 1462-1467

73. Foley RN, Parfrey PS, Kent GM, Harnett JD, Murray DC, Barre PE. Long-term evolution of cardiomyopathy in dialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 1720-1725
74. Shulman NB, Ford CE, Hall WD, Blaufox MD, Simon D, Langford HG, et al. Prognostic value of serum creatinine and effect of treatment of hypertension on renal function. Results from the hypertension detection and follow-up program. The Hypertension Detection and Follow-up Program Cooperative Group. *Hypertension* 1989; 13: 180-193
75. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 1990; 322: 1561–1566
76. Reis SE, Olson MB, Fried L, Reeser V, Mankad S, Pepine CJ, et al. Mild renal insufficiency is associated with angiographic coronary artery disease in women. *Circulation* 2002; 105: 2826–2829
77. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289: 2560-2572
78. de Mattos AM, Siedlecki A, Gaston RS, Perry GJ, Julian BA, Kew CE 2nd, et al. Systolic dysfunction portends increased mortality among those waiting for renal transplant. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1191-1196
79. Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. Outcome and risk factors of ischemic heart disease in chronic uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1428-1434
80. Herzog CA. Acute myocardial infarction in patients with end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl* 1999; 71: S130-S133
81. Joki N, Hase H, Takahashi Y, Ishikawa H, Nakamura R, Imamura Y, et al. Angiographical severity of coronary atherosclerosis predicts death in the first year of hemodialysis. *Int Urol Nephrol* 2003; 35: 289-297
82. Foley RN, Parfrey PS, Kent GM, Harnett JD, Murray DC, Barre PE. Serial change in echocardiographic parameters and cardiac failure in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 912-916

83. Weiner DE, Tighiouart H, Vlagopoulos PT, Griffith JL, Salem DN, Levey AS, et al. Effects of Anemia and Left Ventricular Hypertrophy on Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1803-1810
84. Watanabe R, Lemos MM, Manfredi SR, Draibe SA, Canziani ME. Impact of cardiovascular calcification in nondialyzed patients after 24 months of follow-up. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5(2): 189-194
85. Wu IW, Hung MJ, Chen YC, Hsu HJ, Cherng WJ, Chang CJ, et al. Ventricular function and all-cause mortality in chronic kidney disease patients with angiographic coronary artery disease. *J Nephrol* 2010; 23: 181-188
86. Ahmed A, Rich MW, Sanders PW, Perry GJ, Bakris GL, Zile MR, et al. Chronic kidney disease associated mortality in diastolic versus systolic heart failure: a propensity matched study. *Am J Cardiol* 2007; 99(3): 393-398
87. Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation* 2006; 113: 2335-2362
88. Atkinson JA, Colburn AW, DeGruttola GV, DeMets LD, Downing JG, Hoth FD, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89-95
89. Fox N, Growdon JH. Biomarkers and surrogates. *Neuro Rx* 2004; 1: 181
90. Manolio T. Novel risk markers and clinical practice. *N Engl J Med* 2003; 349: 1587-1589
91. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Antman EM. The search for a biomarker of cardiac ischemia. *Clin Chem* 2003; 49: 537-539
92. Hlatky MA. Exercise testing to predict outcome in patients with angina. *J Gen Intern Med* 1999; 14: 63-65
93. Suresh M, Famington K. Natriuretic Peptides and the Dialysis Patient. *Semin Dial* 2005; 18: 409-419
94. Humphreys MH and Valentin J-P. Natriuretic humoral agents. In *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*, Seldin DW, Giebisch G. 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, Pennsylvania, USA, 2000; p1371-1410

95. Joffy S, Rosner MH. Natriuretic Peptides in ESRD. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 1-10
96. Cataliotti A, Malatino LS, Jougasaki M, Zoccali C, Castellino P, Giacone G et al. Circulating natriuretic peptide concentrations in patients with end-stage renal disease: role of brain natriuretic peptide as a biomarker for ventricular remodeling. *Mayo Clin Proc* 2001; 76(11): 1111-1119.
97. Kisch B. Electron microscopy of the atrium of the heart: I guinea pig. *Exp Med Surg* 1956; 14: 99-112
98. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981; 28: 89-94
99. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alphahuman atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118: 131-139
100. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332: 78-81
101. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shirakami G, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart: production in the ventricle. *Hypertension* 1991; 17: 1152-1155
102. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 863-870
103. Minamino N, Makino Y, Tateyama H, Kangawa K, Matsuo H. Characterization of immunoreactive human C-type natriuretic peptide in brain and heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 535-542
104. Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M. A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem* 1992; 267: 13928-13932
105. Dietz JR, Nazian SJ, Vesely DL. Release of ANF, pro-ANF1-98, and pro-ANF31-67 from isolated rat atria by atrial distention. *Am J Physiol* 1991; 260: H1774-H1778

106. Gardner DG, Wirtz H, Dobbs LG. Stretch-dependent regulation of atrial peptide synthesis and secretion in cultures atrial cardiocytes. *Am J Physiol* 1992; 263: E239-E244
107. Dajak M, Ignjatović S, Mujkić-Singh N. Značaj odredjivanja srčanih natriuretičkih peptida u srčanoj insuficijenciji. *Jugoslav Med Biohem* 2003; 22: 311-317
108. Mujkić-Singh N. Primena biohemijskih markera za dijagnostikovanje akutnog koronarnog sindroma. *Jugoslav Med Biohem* 2003; 22: 289-301
109. Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92: 1558-1564
110. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1993; 87: 464-469
111. Qi W, Mathisen P, Kjekshus J, Simonsen S, Bjørnerheim R, Endresen K, et al. Natriuretic peptides in patients with aortic stenosis. *Am Heart J* 2001; 142: 725-732.
112. Doyama K, Fukumoto M, Takemura G, Tanaka M, Oda T, Hasegawa K, et al. Expression and distribution of brain natriuretic peptide in human right atria. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1832-1838
113. Nakamura S, Naruse M, Naruse K, Kawana M, Nishikawa T, Hosoda S, et al. Atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide coexist in the secretory granules of human cardiac myocytes. *Am J Hypertens* 1991; 4: 909-912
114. Sumida H, Yasue H, Yoshimura M, Okimura K, Ogawa H, Kugiyama, et al. Comparison of secretion pattern between A-type and B-type natriuretic peptides in patients with old myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 1105-1110
115. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, Kikuta K, Kugiyama K, Jougasaki M, 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

116. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens* 1992; 10: 1111-1114
117. Misono KS. Natriuretic peptide receptor: Structure and signaling. *Mol Cell Biochem* 2002; 230: 49-60
118. Suga SI, Nakao K, Hosoda K. Receptor selectivity of atrial natriuretic peptide family; Atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology* 1992; 130: 229-239
119. Maack T, Suzuki M, Almeida FA. Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science* 1987; 238: 675-678
120. Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, Suga S, Saito Y, Ogawa Y, et al. Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest* 1991; 87: 1402-1412
121. Sonnenberg JL, Sakane Y, Jeng AY, Koehn JA, Ansell JA, Wennogle LP, et al. Identification of protease 3.4.24.11 as the major atrial natriuretic factor degrading enzyme in the rat kidney. *Peptides* 1988; 9: 173-180
122. Weber M, Hamm C. Role of B-type natriuretic peptide (BNP) and NT-proBNP in clinical routine. *Heart* 2006; 92: 843-849
123. Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes preglomerular vasodilation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 1986; 324: 473-476
124. Zeidel ML, Kikeri D, Silva P. Atrial natriuretic peptides inhibit conductive sodium uptake by rabbit inner medullary collecting duct cells. *J Clin Invest* 1988; 82: 1067-1074
125. Kurtz A, Della Bruna R, Pfeilschifter J. Atrial natriuretic peptide inhibits renin release from juxtaglomerular cells by a cGMP mediated process. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 4769-4773
126. Obana K, Naruse M, Inagami T. Atrial natriuretic factor inhibits vasopressin secretion from rat posterior pituitary. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 132: 1088-1094

127. Han B, Hasin Y. Cardiovascular effects of natriuretic peptides and their interrelation with endothelin-1. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003; 17: 41–52
128. Richards AM, McDonald D, Fitzpatrick MA, Nichols MG, Espiner EA, Ikram H, et al. Atrial natriuretic hormone has biological effects in man at physiological plasma concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 1134-1139
129. Burnett JC Jr, Granger JP, Opgenorth TJ. Effects of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol* 1984; 247: F863-F866
130. Atarashi K, Mulrow PJ, Franco-Saenz R. Effect of atrial peptides on aldosterone production. *J Clin Invest* 1985; 76: 1807-1811
131. Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ. Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1990; 86: 1690-1697
132. Cao L, Gardner DG. Natriuretic peptides inhibit DNA synthesis in cardiac fibroblasts. *Hypertension* 1995; 25: 227-234
133. Dao Q, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Harrison A, Amirnovin R, Lenert L, et al. Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent-care setting. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 379-385
134. Masson S, Vago T, Baldi G, Salio M, De AN, Nicolis E, et al. Comparative measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in ambulatory patients with heart failure. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 761-763
135. Januzzi JL Jr, Camargo CA, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen AA, Krauser DG, et al. The N-terminal Pro-BNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol* 2005; 95: 948-954
136. Yamamoto K, Burnett J, Jougasaki M, Nishimura RA, Bailey KR, Saito Y, et al. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension* 1996; 28: 988-994
137. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 161-167

138. Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Doughty RN, Espiner EA. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 287-296
139. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation* 2002; 106: 416-422
140. McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, Morton JJ, Ford I, Morrison CE, et al. Biochemical detection of left ventricular systolic dysfunction. *Lancet* 1998; 351: 9-13
141. Anwaruddin S, Lloyd-Jones DM, Baggish A, Chen A, Krauser D, Tung R, 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
142. Mueller C, Laule-Kilian K, Scholer A, Nusbaumer C, Zeller T, Staub D, et al. B-type natriuretic peptide for acute dyspnea in patients with kidney disease: insights from a randomized comparison. *Kidney Int* 2005; 67: 278-284
143. De Filippi CR, Fink JC, Nass CM, Chen H, Christenson R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide for predicting coronary disease and left ventricular hypertrophy in asymptomatic CKD not requiring dialysis. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 35-44
144. Khan IA, Fink J, Nass C, Chen H, Christenson R, de Filippi CR. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide for identifying coronary artery disease and left ventricular hypertrophy in ambulatory chronic kidney disease patients. *Am J Cardiol* 2006; 97: 1530-1534
145. Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Benedetto FA, Parlongo S, Cataliotti A, et al. Diagnostic potential of cardiac natriuretic peptides in dialysis patients. *Kidney Int* 2001; 59: 1559-1566
146. Satyan S, Light RP, Agarwal R. Relationships of N-terminal pro-B-natriuretic peptide and cardiac troponin T to left ventricular mass and function and

- mortality in asymptomatic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2007; 50: 1009-1019
147. Sommerer C, Giannitsis E, Schwenger V, Zeier M. Cardiac biomarkers in haemodialysis patients: the prognostic value of amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide and cardiac troponin T. *Nephron Clin Pract* 2007; 107: c77-c81
 148. Naganuma T, Sugimura K, Wada S, Yasumoto R, Sugimura T, Masuda C, et al. The prognostic role of brain natriuretic peptides in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2002; 22: 437-444
 149. Lee JA, Kim DH, Yoo SJ, Oh DJ, Yu SH, Kang ET. Association between serum n-terminal pro-brain natriuretic peptide concentration and left ventricular dysfunction and extracellular water in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2006; 26: 360-365
 150. Nishikimi T, Futoo Y, Tamano K, Takahashi M, Suzuki T, Minami J, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels in chronic hemodialysis patients: influence of coronary artery disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 1201-1208
 151. Luchner A, Hengstenberg C, Lowel H, Riegger GA, 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
 152. Codognotto M, Piccoli A, Zaninotto M, Mion M, Plebani M, Vertolli U, et al. Renal Dysfunction Is a Confounder for Plasma Natriuretic Peptides in Detecting Heart Dysfunction in Uremic and Idiopathic Dilated Cardiomyopathies. *Clin Chem* 2007; 53: 2097-2104
 153. Fagugli RM, Palumbo B, Ricciardi D, Pasini P, Santirosi P, Vecchi L, et al. Association between brain natriuretic peptide and extracellular water in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2003; 95: c60-c66
 154. Lee SW, Song JH, Kim GA, Lim HJ, Kim MJ. Plasma brain natriuretic peptide concentration on assessment of hydration status in hemodialysis patient. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1257-1266
 155. David S, Kumpers P, Seidler V, Biertz F, Haller H, Fliser D. Diagnostic Value of N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide (NT-ProBNP) for Left

Ventricular Dysfunction in Patients with Chronic Kidney Disease Stage 5 on Haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1370-1377

156. Racek J, Kralova H, Trefil L, Rajdl D, Eiselt J. Brain natriuretic peptide and N terminal proBNP in chronic haemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2006; 103: c162-c172
157. Wahl HG, Graf S, Renz H, Fassbinder W. Elimination of the cardiac natriuretic peptides B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal proBNP by hemodialysis. *Clin Chem* 2004; 50: 1071-1074
158. Iwashima Y, Horio T, Takami Y, Inenaga T, Nishikimi T, Takishita S, et al. Effects of the creation of arteriovenous fistula for hemodialysis on cardiac function and natriuretic peptide levels in CRF. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 974-982
159. Wang AYM, Lam CWK, Yu CM, Wang M, Chan IHS, Zhang Y, et al. N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide: An Independent Risk Predictor of Cardiovascular Congestion, Mortality, and Adverse Cardiovascular Outcomes in Chronic Peritoneal Dialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 321–330
160. Goto T, Takase H, Toriyama T, Sugiura T, Kurita Y, Tsuru N, et al. Increased circulating levels of natriuretic peptides predict future cardiac event in patients with chronic hemodialysis. *Nephron* 2002; 92: 610-615
161. Sommerer C, Beimler J, Schwenger V, Hecke N, Katus HA, Giannitsis E, et al. Cardiac biomarkers and survival in haemodialysis patients. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 350-356
162. Sharma R, Gaze DC, Pellerin D, Mehta RL, Gregson H, Streather CP, et al. Raised plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations predict mortality and cardiac disease in end-stage renal disease. *Heart* 2006; 92: 1518-1519
163. Rutten JH, Korevaar JC, Boeschoten EW, Dekker FW, Krediet RT, Boomsma F, et al. B-type natriuretic peptide and amino-terminal atrial natriuretic peptide predict survival in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2006; 26: 598–602
164. Takeda S, Yamashita A, Maeda K, Maéda Y. Structure of the core domain of human cardiac troponin in the Ca(2+)-saturated form. *Nature* 2003; 424: 35-41

165. Parmacek MS and Solaro RJ. Biology of the Troponin Complex in Cardiac Myocytes. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2004; 47: 159-176
166. Dhoot GK, Gell PG, Perry SV. The localization of the different forms of troponin I in skeletal and cardiac muscle cells. *Exp Cell Res* 1978; 117: 357-370
167. Dhoot GK, Perry SV. Distribution of polymorphic forms of troponin components and tropomyosin in skeletal muscle. *Nature* 1979; 278: 714-718
168. Schreier T, Kedes L, Gahlmann R. Cloning, structural analysis, and expression of the human slow twitch skeletal muscle/cardiac troponin C gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 21247-21253
169. Townsend PJ, Barton PJ, Yacoub MH, Farza H. Molecular cloning of human cardiac troponin T isoforms. Expression in developing and failing heart. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 2223-2236
170. Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 959-969
171. Wu AH, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. *Clin Chem* 1998; 44: 1198–1208
172. Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, Pettersson K, Lövgren T, Severina ME, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin Chem* 1997; 43: 1379–1385.
173. Wu AHB, Feng YJ. Biochemical differences between cTnT and cTnI and their significance for diagnosis of acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 1998; 19(Suppl N): N25–N29.
174. Bleier J, Vorderwinkler KP, Falkensammer J, Mair P, Dapunt O, Puschendorf B, et al. Different intracellular compartmentations of cardiac troponins and myosin heavy chains: a causal connection to their different early release after myocardial damage. *Clin Chem* 1998; 44: 1912–1918

175. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2000; 102: 1221–1226
176. Freda BJ, Tang WHW, Van Lente F, Peacock F, Francis GS. Cardiac troponins in renal insufficiency. Review and clinical implications. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 2065-2071
177. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987; 113: 1333-1344
178. Melanson SEF, Morrow DA, Jarolim P. Earlier Detection of Myocardial Injury in a Preliminary Evaluation Using a New Troponin I Assay With Improved Sensitivity. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 282-286
179. Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Remppis A, Scheffold T, Borgya A, et al. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem* 1992; 38: 386-393
180. Muller-Bardorff, Hallermayer K, Schroder A, Ebert C, Borgya A, Gerhardt W, et al. Improved troponin T ELISA specific for cardiac troponin T isoform: assay development and analytical and clinical validation. *Clin Chem* 1997; 43: 458-466
181. Hallermayer K, Klenner D, Vogel R. Use of recombinant human cardiac troponin T for standardization of third generation troponin T methods. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59(Suppl 230): 128-131
182. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol*. 2002; 40: 1366-1374.
183. Dolci A, Panteghini M. The exciting story of cardiac biomarkers: From retrospective detection to gold diagnostic standard for acute myocardial infarction and more. *Acta Clin Chim* 2006; 369: 179-187

184. Buhaescu I, Izzedine H, Covic A. Cardiac troponins in renal failure – time for optimistic consensus? *Int J Clin Pract* 2005; 59: 1317-1325
185. Panteghini M. Biochemical assessment of myocardial damage with new diagnostic tools. *Cardiologia* 1999; 44: 419-425
186. Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jørgensen P, Peheim E, Ljungdahl L, et al. The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med* 1992; 327: 146-150
187. Hamm CW. Cardiac-specific troponins in acute coronary syndromes. In: Braunwald E. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1997; p.1-10
188. Okamoto K, Takano M, Sakai S, Ishibashi F, Uemura R, Takano T, et al. Elevated troponin T levels and lesion characteristics in non-ST-elevation acute coronary syndromes. *Circulation* 2004; 109: 465-470
189. Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH, Granger CB, Katus HA, Hamm CW, et al. for the GUSTO-11a Investigators. Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. *N Engl J Med* 1996; 335: 1333-1341
190. Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M, McCabe CH, Cannon CP, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 1996; 335: 1342-1349
191. Newby LK, Christenson RH, Ohman EM, Armstrong PW, Thompson TD, Lee KL, et al. Value of serial troponin T measures for early and late risk stratification in patients with acute coronary syndromes. The GUSTO-IIa Investigators. *Circulation* 1998; 98: 1853-1859
192. Eggers KM, Venge P, Wallentin L, Lindahl B. Persistent cardiac troponin I elevation in stabilized patients after an episode of acute coronary syndrome predicts long-term mortality. *Circulation* 2007; 116: 1907-1914
193. Abbas NA, John RI, Webb MC, Kempson ME, Potter AN, Price CP, et al. Cardiac troponins and renal function in nondialysis patients with chronic kidney disease. *Clin Chem* 2005; 51: 2059-2066
194. Ooi DS, House AA. Cardiac troponin T in hemodialyzed patients. *Clin Chem* 1998; 44: 1410-1416

195. Dierkes J, Domrose U, Westphal S, Ambrosch A, Bosselmann HP, NeumannKH, et al. Cardiac troponin T predicts mortality in patients with end-stage renal disease. *Circulation* 2000; 102: 1964-1969
196. Deegan PB, Lafferty ME, Blumsohn A, Henderson IS, McGregor E. Prognostic value of troponin T in hemodialysis patients is independent of comorbidity. *Kidney Int* 2001; 60: 2399-2405
197. Conway B, McLaughlin M, Sharpe P, Harty J. Use of cardiac troponin T in diagnosis and prognosis of cardiac events in patients on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2759-2764
198. Apple FS, Murakami MM, Pearce LA, Herzog CA. Predictive value of cardiac troponin I and T for subsequent death in end-stage renal disease. *Circulation* 2002; 106: 2941-2945
199. Ishii J, Nomura M, Okuma T, Minagawa T, Naruse H, Mori Y, et al. Risk stratification using serum concentrations of cardiac troponin T in patients with end-stage renal disease on chronic maintenance dialysis. *Clin Chim Acta* 2001; 312: 69-79
200. Apple FS, Sharkey SW, Hoelt P, Skeate R, Voss E, Dahlmeier BA, et al. Prognostic value of serum cardiac troponin I and T in chronic dialysis patients: a 1-year outcomes analysis. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 399-403
201. McLaurin MD, Apple FS, Voss EM, Herzog CA, Sharkey SW. Cardiac troponin I, cardiac troponin T, and creatine kinase MB in dialysis patients without ischemic heart disease: evidence of cardiac troponin T expression in skeletal muscle. *Clin Chem* 1997; 43: 976-982
202. Wayand D, Baum H, Schatzle G, Scharf J, Neumeier D. Cardiac troponin T and I in end-stage renal failure. *Clin Chem* 2000; 46: 1345–1350
203. Porter GA, Norton T, Bennett WB. Troponin T, a predictor of death in chronic haemodialysis patients. *Eur Heart J* 1998; 19(Suppl. N): N34–N37
204. Löwbeer C, Ottosson-Seeberger A, Gustafsson S, Norrman R, Hulting J, Gutierrez A. Increased cardiac troponin T and endothelin-1 concentrations in dialysis patients may indicate heart disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1948–1955

205. Aviles RJ, Askari AT, Lindahl B, Wallentin L, Jia G, Ohman EM, et al. Troponin T levels in patients with acute coronary syndromes, with or without renal dysfunction. *N Engl J Med* 2002; 346: 2047-2052
206. Fredericks S, Chang R, Gregson H, Bewick M, Collinson PO, Gaze D, et al. Circulating cardiac troponin-T in patients before and after renal transplantation. *Clin Chim Acta* 2001; 310: 199-203
207. Ellis K, Dreisbach AW, Lertora JL. Plasma elimination of cardiac troponin I in end-stage renal disease. *South Med J* 2001; 94: 993-996
208. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of antemortem serum creatine kinase, creatine kinase-MB, troponin I, and troponin T with cardiac pathology. *Clin Chem* 2000; 46: 338-344
209. deFilippi C, Wasserman S, Rosanio S, Tibliler E, Sperger H, Tocchi M, et al. Cardiac troponin T and C-reactive protein for predicting prognosis, coronary atherosclerosis, and cardiomyopathy in patients undergoing long-term hemodialysis. *JAMA* 2003; 290: 353-359
210. Jung HH, Ma KR, Han H. Elevated concentrations of cardiac troponins are associated with severe coronary artery calcification in asymptomatic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 3117-3123
211. Fahie-Wilson MN, Carmichael DJ, Delaney MP, Stevens PE, Hall EM, Lamb EJ. Cardiac troponin T circulates in the free, intact form in patients with kidney failure. *Clin Chem* 2006; 52: 414-420
212. Iliou MC, Fumeron C, Benoit MO, Tuppin P, Courvoisier CL, Calonge VM, et al. Factors associated with increased serum levels of cardiac troponins T and I in chronic haemodialysis patients: Chronic Haemodialysis And New Cardiac Markers Evaluation (CHANCE) study. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1452-1458
213. Mallamaci F, Zoccali C, Parlongo S, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, et al. Troponin is related to left ventricular mass and predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 68-75
214. Amann K, Breitbach M, Ritz E, Mall G. Myocyte/capillary mismatch in the heart of uremic patients. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1018-1022

215. Kaye D, Pimental D, Prasad S, Maki T, Berger HJ, McNeil PL, et al. Role of transiently altered sarcolemmal membrane permeability and basic fibroblast growth factor release in the hypertrophic response of adult rat ventricular myocytes to increased mechanical activity in vitro. *J Clin Invest* 1996; 97: 281-291
216. deFilippi CR, Thorn EM, Aggarwal M, Joy A, Christenson RH, Duh SH, et al. Frequency and cause of cardiac troponin T elevation in chronic hemodialysis patients from study of cardiovascular magnetic resonance. *Am J Cardiol* 2007; 100: 885-889
217. Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, Das SR, Khera A, McGuire DK, et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation* 2006; 113: 1958-1965
218. Stolear JC, Georges B, Shita A, Verbeelen D. The predictive value of cardiac troponin T measurements in subjects on regular haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(8): 1961-1967
219. Choy JB, Armstrong PW, Ulan RA, Campbell PM, Gourishankar S, Prosser CI et al. Do cardiac troponins provide prognostic insight in hemodialysis patients? *Can J Cardiol* 2003; 19(8): 907-911
220. Khan IA, Wattanasuwan N, Mehta NJ, Tun A, Singh N, Singh HK, et al. Prognostic value of serum cardiac troponin I in ambulatory patients with chronic renal failure undergoing long-term hemodialysis: a two year outcome analysis. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 991-998
221. Beciani M, Tedesco A, Violante A, Cipriani S, Azzarito M, Sturniolo A, et al. Cardiac troponin I (2nd generation assay) in chronic haemodialysis patients: prevalence and prognostic value. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 942-946
222. Stoffel MP, Pollok M, Baldamus CA. Troponin I is a better prognostic parameter of cardiovascular events in asymptomatic patients on hemodialysis than troponin T. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(8): 1259-1260
223. Roberts MA, Hare DL, Macmillan N, Ratnaike S, Sikaris K, Ierino FL. Serial increased cardiac troponin T predicts mortality in asymptomatic patients treated with chronic haemodialysis. *Ann Clin Biochem* 2009; 46: 291-295

224. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 1999; 7: 169-177
225. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448–454
226. Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med* 2000; 192: 1353-1363
227. Chang MK, Binder CJ, Torzewski M, Witztum JL. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13043-13048
228. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulter F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-1911
229. Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Foca A, et al. Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. Creed Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients. *J Hypertens* 2000; 18: 1207-1213
230. Wang AY, Woo J, Wang M, Sea MM, Ip R, Li PK, et al. Association of inflammation and malnutrition with cardiac valve calcification in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1927- 1936
231. Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, Maekawa K, Izumotani T, Yamakawa T, et al. C-reactive protein is a significant predictor of vascular calcification of both aorta and hand arteries. *Semin Nephrol* 2004; 24: 408-412
232. Park CW, Shin YS, Kim CM, Lee SY, Yu SE, Kim SY, et al. Increased C-reactive protein following hemodialysis predicts cardiac hypertrophy in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 1230-1239
233. van Tellingen A, Grooteman MP, Schoorl M, Bartels PC, Schoorl M, van der Ploeg T, et al. Intercurrent clinical events are predictive of plasma C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 632-638

234. Wang AY. Prognostic value of C-reactive protein for heart disease in dialysis patients. *Curr Opin Invest Drugs* 2005; 6: 879-886
235. Fine A. Relevance of C-reactive protein levels in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61: 615-620
236. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126
237. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102: 2165-2168
238. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* 2002; 106: 1439-1441
239. Qamirani E, Ren Y, Kuo L, Hein TW. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent NO-mediated dilation in coronary arterioles by activating p38 kinase and NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 995-1001
240. Li L, Roumeliotis N, Sawamura T, Renier G. C-reactive protein enhances LOX-1 expression in human aortic endothelial cells: relevance of LOX-1 to C-reactive protein-induced endothelial dysfunction. *Circ Res* 2004; 95: 877-883
241. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The Evolving Role of C-Reactive Protein in Atherothrombosis. *Clin Chem* 2009; 55: 229-238
242. Cermak J, Key NS, Bach RR, Balla J, Jacob HS, Vercellotti GM. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* 1993; 82: 513-520
243. Singh U, Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein stimulates myeloperoxidase release from polymorphonuclear cells and monocytes: implications for acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2009; 55: 361-364
244. Ballou SP, Lozanski G. Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein. *Cytokine* 1992; 4: 361-368
245. Devaraj S, Yun JM, Duncan-Staley C. C-reactive protein induces M-CSF release and macrophage proliferation. *J Leukoc Biol* 2009; 85: 262-267
246. Singh U, Dasu MR, Yancey PG, Afify A, Devaraj S, Jialal I. Human C-reactive protein promotes oxidized low density lipoprotein uptake and matrix metalloproteinase-9 release in Wistar rats. *J Lipid Res* 2008; 49: 1015-1023

247. Williams TN, Zhang CX, Game BA, He L, Huang Y. C-reactive protein stimulates MMP-1 expression in U937 histiocytes through FcγRII and extracellular signal-regulated kinase pathway: an implication of CRP involvement in plaque destabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 61-66
248. Han KH, Hong KH, Park JH, Ko J, Kang DH, Choi KJ, et al. C-reactive protein promotes monocyte chemoattractant protein-1-mediated chemotaxis through upregulating CC chemokine receptor 2 expression in human monocytes. *Circulation* 2004; 109: 2566-2571
249. Wang CH, Li SH, Weisel RD, Fedak PW, Dumont AS, Szmitko P, et al. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation* 2003; 107: 1783-1790
250. Wolbink GJ, Brouwer MC, Buysmann S, ten Berge IJ, Hack C. CRP-mediated activation of complement in vivo: assessment by measuring circulating complement-C-reactive protein complexes. *J Immunol* 1996; 157: 473-479
251. Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, Taylor KM, Sohail M, Krausz T, et al. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med* 1999; 190: 1733-1740
252. Bhakdi S, Torzewski M, Klouche M, Hemmes M. Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2348-2354
253. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103: 1194-1197
254. Singh SK, Suresh MV, Prayther DC, Moorman DJ, Rusinol AE, Agrawal A. C-reactive protein-bound enzymatically modified low-density lipoprotein does not transform macrophages into foam cells. *J Immunol* 2008; 180: 4316-4322
255. Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, Szmitko PE, Zucco L, Wang CH, et al. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 109: 2058-2067

256. Ikeda U, Maeda Y, Yamamoto K, Shimada K. C-Reactive protein augments inducible nitric oxide synthase expression in cytokine-stimulated cardiac myocytes. *Cardiovasc Res* 2002; 56: 86-92
257. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, et al. Endotoxin and immune activation in hronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1838-1842
258. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990; 323: 236-241
259. Kapadia SR, Yakoob K, Nader S, Thomas JD, Mann DL, Griffin BP. Elevated circulating levels of serum tumor necrosis factor-alpha in patients with hemodynamically significant pressure and volume overload. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 208–212
260. Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int* 2003; 63: 179-185
261. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M, et al. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int* 2001; 60: 1844-1850
262. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, et al. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 335-340
263. Amann K, Tornig J, Buzello M, Kuhlmann A, Gross ML, Adamczak M, et al. Effect of antioxidant therapy with dl- α -tocopherol on cardiovascular structure in experimental renal failure. *Kidney Int* 2002; 62: 877-884
264. Date M, Morita T, Yamashita N, Nishida K, Yamaguchi O, Higuchi Y, et al. The antioxidant N-2-mercaptopropionyl glycine attenuates left ventricular hypertrophy in in vivo murine pressure-overload model. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 907-912
265. Bergstrom J, Heimbürger O, Lindholm B, Qureshi AR. Elevated serum Creactive protein is a strong predictor of increased mortality and low serum

- albumin in hemodialysis (HD) patients. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 573 (abstract)
266. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 1956-1960
267. Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 80: 99-102
268. Ikizler TA, Wingard RL, Harvell J, Shyr Y, Hakim RM. Association of morbidity with markers of nutrition and inflammation in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *Kidney Int* 1999; 55: 1945-1951
269. Bellomo G, Lippi G, Saronio P, Reboldi G, Verdura C, Timio F, et al. Inflammation, infection and cardiovascular events in chronic hemodialysis patients: a prospective study. *J Nephrol* 2003; 16: 245-251
270. Owen WF, Lowrie EG. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 627-636
271. Korevaar JC, van Manen JG, Dekker FW, de Waart DR, Boeschoten EW, Krediet RT. NECOSAD study group: Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2916-2922
272. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Qureshi AR, Hayashi SY, Manfro RC, Pachaly MA, et al. The prognostic impact of fluctuating levels of C-reactive protein in Brazilian haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2803-2809
273. Honda H, Qureshi AR, Heimbürger O, Barany P, Wang K, Pecoits-Filho R, et al. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD. *Am J Kidney Dis* 2006; 47: 139-148
274. Haubitz M, Brunkhorst R, Wrenger E, Froese P, Schulze M, Koch KM. Chronic induction of C-reactive protein by hemodialysis, but not by peritoneal dialysis therapy. *Perit Dial Int* 1996; 16: 158-162

275. Noh H, Lee SW, Kang SW, Shin SK, Choi KH, Lee HY, et al. Serum C-reactive protein: a predictor of mortality in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1998; 18: 387-394
276. Herzig KA, Purdie DM, Chang W, Brown AM, Hawley CM, Campbell SB, et al. Is C-reactive protein a useful predictor of outcome in peritoneal dialysis patients? *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 814-821
277. Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, Fukiyama K. Serum C-reactive protein (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1956-1960
278. Ducloux D, Bresson-Vautrin C, Kribs M, Abdelfatah A, Chalopin JM. C-reactive protein and cardiovascular disease in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 1417-1422
279. Haubitz M, Brunkhorst R. C-reactive protein and chronic Chlamydia pneumoniae infection-long-term predictors for cardiovascular disease and survival in patients on peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 809-815
280. Fein PA, Mittman N, Gadh R, Chattopadhyay J, Blaustein D, Mushnick R, et al. Malnutrition and inflammation in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int Suppl.* 2003; 87: S87-91
281. Ortega O, Rodriguez I, Gallar P, Carreño A, Ortiz M, Espejo B, et al. Significance of high C-reactive protein levels in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1105-1109
282. Menon V, Greene T, Wang X, Pereira AA, Marcovina SM, Beck GJ, et al. C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68: 766-762
283. Vickery S, Webb MC, Price CP, John RI, Abbas NA, Lamb EJ. Prognostic value of cardiac biomarkers for death in a non-dialysis chronic kidney disease population. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 3546-3553
284. Van Der Sande FM, Kooman JP, Leunissen KM. The predictive value of C-reactive protein in end-stage renal disease: is it clinically significant? *Blood Purif* 2006; 24: 335-341

285. Williams B, Poulter NR, Brown MJ, Davis M, Mcinnes GT, Potter JF, et al. British Hypertension Society guidelines for hypertension management (BHS-IV): summary. *BMJ* 2004; 328(7440): 634-640
286. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31-41
287. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GJ. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: A0828
288. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006; 7: 79-108
289. Naguef SF, Appleton CP, Gilebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography. *Eur J Echocardiogr* 2009; 10: 165-193
290. Otto CM. Ventricular Diastolic Filling and Function in Textbook of Clinical Echocardiography, 4th edition, St. Louis, WB Saunders, 2009; pp157-181
291. Takatsuji H, Mikami T, Urasawa K, Teranishi J-I, Onozuka H, Takagi C, et al. A new approach for evaluation of left ventricular diastolic function: spatial and temporal analysis of left ventricular filling flow propagation by color M-mode Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 365–371
292. Tei C, Ling LH, Hodge DO, Bailey KR, Oh JK, Rodeheffer RJ, et al. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function--a study in normals and dilated cardiomyopathy. *J Cardiol* 1995; 26: 357-366
293. Sohn DW, Chai IH, Lee DJ, Kim HC, Kim HS, Oh BH, et al. Assessment of mitral annulus velocity by Doppler tissue imaging in the evaluation of left ventricular diastolic function. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 474-480
294. Hayashi SY, Rohani M, Lindholm B, Brodin LA, Lind B, Barany P, et al. Left ventricular function in patients with chronic kidney disease evaluated by colour tissue Doppler velocity imaging. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 2: 125-132
295. Yamada H, Oki T, Tabata T, Mishiro Y, Abe M, Onose Y, et al. Assessment of the Systolic Left Ventricular Myocardial Velocity Profile and Gradient Using

- Tissue Doppler Imaging in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Echocardiography* 1999; 16: 775-783
296. Nagueh SF, Sun H, Kopelen HA, Middleton KJ, Khoury DS. Hemodynamic determinants of mitral annulus diastolic velocities by tissue Doppler. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 278-285
297. Rakowski H, Appleton C, Chan KL, Dumesnil AG, Honos G, Jue J, et al. Canadian consensus recommendations for the measurement and reporting of diastolic dysfunction by echocardiography: from the investigators of Consensus on Diastolic Dysfunction by Echocardiography (review). *J Am Soc Echocardiogr* 1996; 9: 736–760
298. Crouse JR 3rd. Imaging atherosclerosis: state of the art. *J Lipid Res* 2006; 47(8): 1677–1699
299. Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, et al. Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation* 2000; 101(1): E16–E22
300. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieu M, et al. Mannheim Intima-media Thickness Consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004; 18: 346-349
301. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim Carotid Intima-media Thickness Consensus (2004-2006): an update on behalf of the advisory board of the 3rd and 4th watching the risk symposium 13th and 15th European stroke conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23: 75-80
302. Savage T, Clarke AL, Giles M, Tomson CR, Raine AE. Calcified plaque is common in the carotid and femoral arteries of dialysis patients without clinical vascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2004-2012
303. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M et al. Chronic kidney disease and mortality risk: A systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2034–2047

304. Parsa AFZ, Abdolahi A, Mahdavitmazdeh. Is cardiac biomarkers and left ventricular function affected by chronic kidney disease? *Indian Heart J* 2012; 64: 479-483
305. Sharma R. Screening for cardiovascular disease in patients with advanced chronic kidney disease. *J Ren Care* 2010; 36(1): 68-75
306. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010; 375(9731): 2073-2081
307. Zager PG, Nikolic J, Brown RH, Kampbell MA, Hunt WC, Peterson D, et al. “U” curve association of blood pressure and mortality in hemodialysis patients. Medical Directors of Dialysis Clinic, Inc. *Kidney Int* 1998; 54(2): 561-569
308. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356, 222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA* 1986; 256(20): 2823–2828
309. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(7): 953–960
310. Kwan BC, Kronenberg F, Beddhu S, Cheung AK. Lipoprotein metabolism and lipid management in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(4): 1246–1261
311. USRDS. Incidence and prevalence of ESRD. United States Renal Data System. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: S38-S49
312. Taegtmeyer H, McNulty P, Young ME. Adaptation and mal-adaptation of the heart in diabetes: Part I: general concepts. *Circulation* 2002; 105(14): 1727-1733
313. Kalantar-Zadeh K, Abbott KC, Salahudeen AK, Kilpatrick RD, Horwich TB. Survival advantages of obesity in dialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(3): 543–554

314. Schannwell CM. Cardiac alterations caused by renal failure. *Med Klin* 2006; 101(Suppl 1): 69-71
315. Ahmed A, Rich MW, Sanders PW, Perry GJ, Bakris GL, Zile MR, et al. Chronic kidney disease associated mortality in diastolic versus systolic heart failure: a propensity matched study. *Am J Cardiol* 2007; 99: 393–398
316. Mall G, Huther W, Schneider J, Lundin P, Ritz E. Diffuse intermyocardiocytic fibrosis in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 39–44
317. Amann K, Wiest G, Zimmer G, Gretz N, Ritz E, Mall G. Reduced capillary density in the myocardium of uremic rats: a stereological study. *Kidney Int* 1992; 42: 1079–1085
318. Amann K, Breitbach M, Ritz E, Mall G. Myocyte/capillary mismatch in the heart of uremic patients. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9(6): 1018-1022
319. Orth S.R., Viedt C, Amann K, Ritz E. Endothelin in renal diseases and cardiovascular remodeling in renal failure. *Internal med* 2001; 40(4): 285-291
320. Stanley WC: Cardiac energetics during ischemia and the rationale for metabolic interventions. *Coron Artery Dis* 2001; 12: S3–S7
321. van der Vusse GJ, Stam H. Lipid and carbohydrate metabolism in the ischemic heart. *Basic Res Cardiol* 1987; 82: 149–153
322. Tyralla K, Amann K. Morphology of the heart and arteries in renal failure. *Kidney Int* 2003; 63: S80–S83
323. Aoki J, Ikari Y, Nakajima H, Mori M, Sugimoto T, Hatori M, et al. Clinical and pathologic characteristics of dilated cardiomyopathy in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2005; 67: 333–340
324. Sharma R, Pellerin D, Gaze DC, Gregson H, Steather CP, Collinson PO, et al. Dobutamine stress echocardiography and the resting but not exercise electrocardiograph predict severe coronary artery disease in renal transplant candidates. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(10): 2207-2214
325. Raj DS, D’Mello S, Soniah S, Sheeba SD, Mani K. Left ventricular morphology in chronic renal failure by echocardiography. *Renal Failure* 1997; 19: 799-806
326. Dangri P, Agarwal S, Kalra OP, Rajpal S. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy in patients of chronic renal failure. *Indian J Nephrol* 2003; 13: 92-97

327. Sambhi RS, Gaur AK, Hotchandani R, Aggarwal KK, Kaur S, Gupta M, et al. Patterns of left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease: an echocardiographic evaluation. *Indian Heart J* 2011; 63(3): 259-268
328. Greaves SC, Gamble GD, Collins JF, Whalley GN, Sharpe DN. Determinants of left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1994; 24: 768-776
329. Tucker B, Fabbian F, Giles M, Thuraisingham RC, Raine AE, Baker LR. Left ventricular hypertrophy and ambulatory blood pressure monitoring in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 724-728
330. Tomilina NA, Storozhakov GI, Gendlin GE, Badaeva SV, Zhidkova DA, Kim IG, et al. Risk factors and pathogenic mechanisms of left ventricular hypertrophy in progressive chronic kidney disease and after transplantation of the kidney. *Ter Arkh* 2007; 79(6): 34-40
331. Rudenko TE, Kutyrina IM, Shvetsov MIu. Risk factors for myocardial remodeling at stage II-IV of chronic kidney disease. *Ter Arkh* 2012; 84(6): 21-26
332. Huting J, Kramer W, Schutterle G, Wizemann V. Analysis of left ventricular changes associated with chronic hemodialysis. *Nephron* 1988; 49: 284-290
333. Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. The outcome and risk factors for left ventricular disorders in chronic uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1277-1285
334. Norton GR, Woodiwiss AJ, Gaasch WH, Mela T, Chung ES, Aurigemma GP et al. Heart failure in pressure overload hypertrophy. The relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 664-671
335. Paoletti E, Cassottana P, Bellino D, Specchia C, Messa P, Cannella G. Left ventricular geometry and adverse cardiovascular events in chronic hemodialysis patients on prolonged therapy with ACE inhibitors. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 728-736
336. Cohen-Solar A. Left ventricular diastolic dysfunction: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (Suppl 4): 3-5

337. Essig M, Escoubet B, de Zuttere D, Blanchet F, Arnoult F, Dupuis E, et al. Cardiovascular remodelling and extracellular fluid excess in early stages of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 3: 239-248
338. Edvardsen T, Urheim S, Skulstad H, Steine K, Ihlen H, Smiseth OA. Quantification of left ventricular systolic function by tissue Doppler echocardiography: added value of measuring pre- and postejction velocities in ischemic myocardium. *Circulation* 2002; 105: 2071–2077
339. Oki T, Tabata T, Yamada H, Wakatsuki T, Shinohara H, Nishikado A, et al. Clinical application of pulsed Doppler tissue imaging for assessing abnormal left ventricular relaxation. *Am J Cardiol* 1997; 79: 921–928
340. Ommen SR, Nishimura RA, Appleton CP, Miller FA, Oh JK, Redfield MM, et al. Clinical utility of Doppler echocardiography and tissue Doppler imaging in the estimation of left ventricular filling pressures: A comparative simultaneous Doppler-catheterization study. *Circulation* 2000; 102: 1788–1794
341. Derumeaux G, Mulder P, Richard V, Chagraoui A, Nafeh C, Bauer F, et al. Tissue Doppler imaging differentiates physiological from pathological pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. *Circulation* 2002; 105: 1602–1608
342. Salusky IB, Goodman WG. Cardiovascular calcification in end-stage renal disease *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 336-339
343. Ribeiro S, Ramos A, Brandao A, Rebelo JR, Guerra A, Resina C, et al. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2037–2040
344. Raggi P, Bellasi A, Gamboa C, Ferramosca E, Ratti C, Block GA, et al. All-cause Mortality in Hemodialysis Patients with Heart Valve Calcification. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(8): 1990-1995
345. Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 394–401
346. Leskinen Y, Paana T, Saha H, Groundstroem K, Lehtimaki T, Kilpinen S, et al. Valvular calcification and its relationship to atherosclerosis in chronic kidney disease. *J Heart Valve Dis* 2009; 18(4): 429-438

347. Adenev KL, Siscovick DS, Ix JH, Seliger SL, Shlipak MG, Jenny NS, et al. Association of Serum Phosphate with Vascular and Valvular Calcification in Moderate CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(2): 381-387
348. Mohler ER, 3rd. Mechanisms of aortic valve calcification. *Am J Cardiol* 2004; 94: 1396-1402
349. Raggi P, Chertow GM, Torres PU, Csiky B, Naso A, Nossuli K, et al. The ADVANCE study: A randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on HD. *Nephrol Dial Transplant* 2010.
350. Raggi P, Bommer J, Chertow GM. Valvular calcification in hemodialysis patients randomized to calcium-based phosphorus binders or sevelamer. *J Heart Valve Dis* 2004; 13: 134-141
351. Asselbergs FW, Mozaffarian D, Katz R. Association of renal function with cardiac calcifications in older adults: the cardiovascular health study. *Nephrol Dial Transplant* 2008. Advance access
352. Wang AY, Wang M, Woo J, Lam CW, Li PK, Lui SF, et al. Cardiac valve calcification as an important predictor for all-cause and cardiovascular mortality in long-term peritoneal dialysis patients: A prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 159-168
353. Wang AY, Woo J, Lam CW, Wang M, Chan IH, Gao P, et al. Associations of serum fetuin-A with malnutrition, inflammation, atherosclerosis and valvular calcification syndrome and outcome in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1676-1685
354. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of arterial wall: A direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986; 74: 1399-1406
355. Rossi A, Bonfante L, Giacomini A, Calabro A, Rossi G, et al. Carotid artery lesions in patients with non diabetic chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 58-66
356. Leskinen Y, Lehtimäki T, Loimaala A, Lautamäki V, Kallio T, Huhtala H, et al. Carotid atherosclerosis in chronic renal failure-the central role of increased plaque burden. *Atherosclerosis* 2003; 171: 295-302

357. Alaei A, Khademloo M. Evaluation of correlation between carotid artery intima media wall thickness and coronary artery stenosis in Sari, North of Iran. *Pak J Biol Sci* 2008; 11: 2360-2363.
358. Salonen R, Seppanen K, Rauramaa R, Salonen JT. Prevalence of carotid atherosclerosis and serum cholesterol levels in eastern Finland. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 788-792
359. Ekart R, Hojs R, Hojs-Fabjan T, Pečovnik Balon B. Predictive value of carotid intima media thickness in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2005; 29: 615-619
360. Fabris F, Zanonchi M, Bo M, Fonte G, Poli L, Bergoglio I, et al. Carotid plaque, aging, and risk factors – a study of 457 subjects. *Stroke* 1994; 25: 1133-1140
361. Kumar KS, Lakshmi AY, Rao PVS, Das GC, Kumar VS. Carotid intima-media thickness in patients with end-stage renal disease. *Indian J Nephrol* 2009; 19: 13-14
362. Prasad N, Kumar S, Singh A, Sinha A, Chawla K, Gupta A, et al. Carotid intimal thickness and flow-mediated dilatation in diabetic and nondiabetic continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2009; 29: S96-S101
363. Balci M, Kirkpantur A, Gulbay M, Gurbuz OA, 2010. Plasma fibroblast growth factor-23 levels are independently associated with carotid artery atherosclerosis in maintenance hemodialysis patients. *Hemodial. Int* 2010; 14: 425-432
364. Shakeri A, Abdi M, Khosroshahi HT, Fouladi RF. Common Carotid Artery Intima-media Thickness and Atherosclerotic Plaques in Carotid Bulb in Patients with Chronic Kidney Disease on Hemodialysis: A Case-control Study. *Pak J Biol Sci* 2011; 14(17): 844-848
365. Ishimura E, Shoji T, Emoto M, Motoyama K, Shinohara K, Matsumoto N, et al. Renal insufficiency accelerates atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(Suppl.1): S186–90
366. Shoji T, Emoto M, Tabata T, Kimoto E, Shinokara K, Maekawa K, et al. Advanced Atherosclerosis in predialysis patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 2002; 61 (6): 2187-2192

367. Ekart R, Hojs R, Bevc S, Pečovnik Balon B. Asymptomatic Atherosclerosis and Hypertension in Nondiabetic Patients With Chronic Kidney Disease. *Artif Organs* 2008; 32(3): 220-225
368. Preston E, Ellis MR, Kulinskaya E, Davies AH, Brown EA. Association between carotid artery intima-media thickness and cardiovascular risk factors in CKD. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 856–862.
369. Benedetto FA, Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Rate of Atherosclerotic Plaque Formation Predicts Cardiovascular Events in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 757-763
370. Pascazio I, Bianco F, Giorgini A, Galli G, Curri G, Panzetta G. Echo color Doppler imaging of carotid vessels in hemodialysis patients: evidence of high levels of atherosclerotic lesions. *Am J Kidney Dis* 1996; 28: 713–720
371. Tanaka M, Abe Y, Furukado S, Miwa K, Sakaguchi M, Sakoda S, et al. Chronic Kidney Disease and Carotid Atherosclerosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2012; 21: 47-51
372. Sumida Y, Nakayama M, Nagata M, Nakashita S, Suehiro T, Kaizu Y, et al. carotid artery calcification and atherosclerosis at the initiation of hemodialysis in patients with end-stage renal disease. *Clin Nephrol* 2010; 73(5): 360-369
373. Ghanavatian S, Diep LM, Barany P, Heimburger O, Seeberger A, Stenvinkel P, et al. Subclinical Atherosclerosis, Endothelial Function, and Serum Inflammatory Markers in Chronic Kidney Disease Stages 3 to 4. *Angiology* 2013; 00(0): 1-7
374. Banerjee D, Recio-Mayoral A, Chitalia N, Kaski J-C. Insulin Resistance, Inflammation, and Vascular Disease in Nondiabetic Predialysis Chronic Kidney Disease Patients. *Clin Cardiol* 2011; 34(6): 360-365
375. Abraham G, Sundaram V, Sundaram V, Mathew M, Leslie N, Sathiah V. C-reactive protein, a Valuable Predictive Marker in Chronic Kidney Disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2009; 20(5): 811-815
376. 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

377. Streja E, Kovesdy CP, Molnar MZ, Norris KC, Greenland S, Nissenson AR, et al. Role of nutritional status and inflammation in higher survival of African American and Hispanic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2011;57: 883-893
378. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1549-1557
379. Tatli MM, Vural H, Koc A, Kosecik M, Atas A. Altered anti-oxidant status and increased lipid peroxidation in marasmic children. *Pediatr Int* 2000; 42: 289-292
380. Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G, Avram MM, Kopple JD. Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 864-881
381. Thambyrajah J, Landray MJ, Mc Glynn FJ, Jones HJ, Wheeler DC, Townend JN. Abnormalities of endothelial function in patients with predialysis renal failure. *Heart* 2000; 83(2): 205-209
382. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-454
383. Kalantar Zadeh K, Rodriguez RA, Hymphreys MH. Association between serum ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 141-149
384. Mac Dougall JC. Individualizing target haemoglobin concentrations – tailoring treatment for renal anaemia. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(Suppl 7): 9-13
385. Tsuboi A, Watanabe M, Kazumi T, Fukuo K. Association of Low Serum Iron Levels with Low-grade Inflammation and Hyperadiponectinemia in Community-living Elderly Women. *J Atheroscler Thromb* 2013; April 25. [Epub ahead of print]
386. Jeng CC, Tian YC, Wu HH, Hsu PY, Huang JY, Chen YC, et al. Effectiveness of oral and intravenous iron therapy in haemodialysis patients. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 416-422
387. Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection

- fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007; 28: 2539– 2550
388. Tagore R, Ling LH, Yang H, Daw HY, Chan YH, Sethi SK. Natriuretic Peptides in Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(6): 1644-1651
389. Tsutamoto T, Wada A, Sakai H, Ishikawa C, Tanaka T, Hayashi M, et al. Relationship between renal function and plasma brain natriuretic peptide in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 582– 586
390. van Kimmenade RR, Pinto Y, Januzzi, JL Jr. When renal and cardiac insufficiencies intersect: is there a role for natriuretic peptide testing in the “cardio-renal syndrome”? *Eur Heart J* 2007; 28: 2960–2961
391. Gardner RS, Chong KS, O'Meara E, Jardine A, Ford I, McDonagh TA. Renal dysfunction, as measured by the modification of diet in renal disease equations, and outcome in patients with advanced heart failure. *Eur Heart J* 2007; 28: 3027–3033
392. Forman DE, Butler J, Wang Y, Abraham WT, O'Connor CM, Gottlieb SS, et al. Incidence, predictors at admission, and impact of worsening renal function among patients hospitalized with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 61– 67
393. McCullough PA, Duc P, Omland T, McCord J, Nowak RM, Hollander JE, et al. 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
394. Hogenhuis J, Voors AA, Jaarsma T, Hoes AW, Hillege HL, Kragten JA et al. Anemia and renal dysfunction are independently associated with BNP and NT-proBNP levels in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 787–794
395. Costello-Boerrigter LC, Boerrigter G, Redfield MM, Rodeheffer RJ, Urban LH, Mahoney DW, et al. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide in the general community: determinants and detection of left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 345– 353
396. Desai AS, Bibbins-Domingo K, Shlipak MG, Wu AH, Ali S, Whooley MA. Association between anaemia and N-terminal pro-B-type natriuretic

- peptide (NT-proBNP): Findings from the Heart and Soul Study. *European Journal of Heart Failure* 2007; 9: 886-891
397. Knudsen CW, Vik-Mo H, Omland T. Blood haemoglobin is an independent predictor of B-type natriuretic peptide (BNP). *Clin Sci* 2005; 109: 69-74
398. Metivier M, Marchais SJ, Guerin AP, Pannier B, London GM. Pathophysiology of anaemia: focus on the heart and blood vessels. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(suppl 3): 14-18
399. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga S, Komatsu U, Kishimoto I et al. Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an “emergency” cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* 1995; 96: 1280-1287
400. Ruskoaho H. Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr Rev* 2003; 24: 341–356
401. Androne AS, Katz SD, Lund L, LaManca J, Hudaihed A, Hryniewicz K et al. Hemodilution is common in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2003; 107: 226–229
402. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PW, et al. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation* 2004; 109(5): 594-600
403. Sarzani R, Dessi-Fulgheri P, Paci VM, et al. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest* 1996; 19: 581–585
404. Dessi-Fulgheri P, Sarzani R, Tamburrini P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide and natriuretic peptide receptor gene expression in adipose tissue of normotensive and hypertensive obese patients. *J Hypertens* 1997; 15: 1695–1699
405. Sarzani R, Dessi-Fulgheri P, Salvi F, et al. A novel promoter variant of the natriuretic peptide clearance receptor gene is associated with lower atrial natriuretic peptide and higher blood pressure in obese hypertensives. *J Hypertens* 1999; 17: 1301–1305

406. Morabito D, Vallotton MB, Lang U. Obesity is associated with impaired ventricular protein kinase C-MAP kinase signaling and altered ANP mRNA expression in the heart of adult Zucker rats. *J Invest Med* 2001; 49: 310–318
407. Sengenès C, Berlan M, De Glisezinski I, et al. Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J* 2000; 14: 1345–1351
408. Olsen MH, Hansen TW, Christensen MK, Gustafsson F, Rasmussen S, Wachtell K et al. N-terminal pro brain natriuretic peptide is inversely related to metabolic cardiovascular risk factors and the metabolic syndrome. *Hypertension* 2005; 46: 660-666
409. Khan AM, Cheng S, Magnusson M, Larson MG, Newton-Cheh C, McCabe EL, et al. Cardiac natriuretic peptides, obesity, and insulin resistance: evidence from two community-based studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(10): 3242-3249
410. Yang Y, Wang Y, Shi ZW, Zhu DL, Gap PJ. Association of E/E' and NT-proBNP with Renal Function in Patients with Essential Hypertension. *PLoS One* 2013; 8(1): e54513
411. Ogawa S, Takeuchi K, Mori T, Nako K, Ito S. Spironolactone further reduces urinary albumin excretion and plasma B-type natriuretic peptide levels in hypertensive type II diabetes treated with angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 477–479
412. Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 1986; 324: 473-476
413. Yano Y, Katsuki A, Gabazza EC, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels in normotensive noninsulin-dependent diabetic patients with microalbuminuria. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2353-2356
414. Taner B, Abdulkadir U. Plasma NT-pro BNP Concentrations in Patients with Hypertensive Chronic Kidney Disease. *Int J Nephrol Urol* 2010; 2(4): 537-542
415. Kindermann M, Reil JC, Pieske B, van VDJ, Böhm M. Heart failure with normal left ventricular ejection fraction: what is the evidence? *Trends Cardiovasc Med* 2008; 18: 280–292

416. Liu H, Zhang YZ, Gao M, Liu BC. Elevation of B-type natriuretic peptide is a sensitive marker of left ventricular diastolic dysfunction in patients with maintenance haemodialysis. *Biomarkers* 2010; 15(6): 533-537
417. Racek J, Kralova H, Trefil L, Rajdl D, Eiselt J. Brain natriuretic peptide and N-terminal proBNP in chronic haemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2006; 103: c162–172
418. de Sa DD, Chen HH. The role of natriuretic peptides in heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2008; 10: 182–189
419. Troughton RW, Richards AM. B-type natriuretic peptides and echocardiographic measures of cardiac structure and function. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2: 216–225
420. Takase H, Dohi Y, Toriyama T, Okado T, Tanaka, Shinbo H, et al. B-type natriuretic peptide levels and cardiovascular risk in patients with diastolic dysfunction on chronic haemodialysis: cross-sectional and observational studies. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 683-690
421. Lamb EJ, Webb MC, Abbas NA. The significance of serum troponin T in patients with kidney disease: a review of the literature. *Ann Clin Biochem* 2004; 41: 1-9
422. Flisinski M, Strozecki P, Stefanska A, Zarzycka-Lindner G, Brymora A, Manitius J. Cardiac troponin I in patients with chronic kidney disease treated conservatively or undergoing long-term haemodialysis. *Kardiol Pol* 2007; 65(9): 1068-1075
423. Seyfeli E, Abaci A, Ekici E, Oguzhan A, Tokgoz B, Yalcin F, et al. The relationship between Cardiac Troponins and Left Ventricular Mass Index in Patients with Chronic Renal Failure. *Renal Fail* 2008; 30: 976-981
424. Collinson PO, Hadcocks L, Foo Y, Rosalki SB, Stubbs PJ, Morgan SH, et al. Cardiac troponins in patients with renal dysfunction. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 380-386
425. Goicoechea M, Garca de Vinuesa S, Gomez-Campdera F, Gutierrez MJ, Blanco P, et al. Clinical significance of cardiac troponin T levels in chronic kidney disease patients: predictive value for cardiovascular risk. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 846-853

426. Kitagawa M, Sugiyama H, Morinaga H, Inoue T, Takiue K, Kikumoto Y, et al. Serum High-Sensitivity Cardiac Troponin T is a Significant Biomarker of Left-Ventricular Diastolic Dysfunction in Subjects with Non-Diabetic Chronic Kidney Disease. *Nephron Extra* 2011; 1(1): 166-177
427. deFilippi C, Seliger SL, Kelley W, Duh SH, Hise M, Christenson RH, et al. Interpreting Cardiac Troponin Results from High-Sensitivity Assays in Chronic Kidney Disease without Acute Coronary Syndrome. *Clin Chem* 2012; 58: 1342-1351
428. Smith K, deFilippi C, Isakova T, Gutierrez OM, Laliberte K, Seliger S, et al. Fibroblast Growth factor 23, high-sensitivity cardiac troponin, and left ventricular hypertrophy in CKD. *Am J Kidney Dis* 2013; 61(1): 67-73
429. Diris JH, Hackeng CM, Kooman JP, Pinto YM, Hermens WT, van Dieijen-Visser MP. Impaired renal clearance explains elevated troponin T fragments in hemodialysis patients. *Circulation* 2004; 109: 23-25
430. Collinson PO, Boa FG, Gaze DC. Measurement of cardiac troponins. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 423-449
431. Zümründal A, Bakinen O, Uçan H, Atalay HV, Bodur H. Relationship between uremic myopathy and false-positive cardiac troponin T test. *Nephron* 2000; 86: 522-523
432. Ricchiuti V, Zhang J, Apple FS. Cardiac troponin I and T alterations in hearts with severe left ventricular remodeling. *Clin Chem* 1997; 43: 990-995
433. Abaci A, Ekici E, Oguzhan A, Tokgoz B, Utaş C. Cardiac troponins T i I in patients with end-stage renal disease: the relation with left ventricular mass and their prognostic value. *Clin Cardiol* 2004; 27(12): 704-709
434. Petrović D, Obrenović R, Radovanović M, Stojimirović B. Cardiac troponins and left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients. *Med Pregl* 2007; 2: 87-90
435. Kiatchoosakun S, Sahasthas D, Wongvipaporn C, Pongsukul C. Cardiac troponin-T in pre-end stage kidney disease. *J Med Assoc Thai* 2008; 91(12): 1806-1811

436. Quiroga B, Goicoechea M, Garcia de Vinuesa S, Verde E, Verdalles U, Yuste C, et al. Cardiac markers in different degrees of chronic kidney disease: influence of inflammation and previous heart disease. *Med Clin* 2012; 139(3): 98-102
437. Katerinis I, Nguyen Q-V. Cardiac Findings in Asymptomatic Chronic Hemodialysis Patients with Persistently Elevated Cardiac Troponin I levels. *Renal Fail* 2008; 30: 357-362
438. Obialo CI, Sharda S, Goyal S, Ofili EO, Oduwole A, Gray N. Ability of troponin T to predict angiographic coronary artery disease in patients with chronic kidney disease. *Am J Cardiol* 2004; 94: 834-836
439. Sharma R, Gaze DC, Pellerin D, Mehta RL, Gregson H, Streather CP, et al. Cardiac structural and functional abnormalities in end stage renal disease patients with elevated cardiac troponin T. *Heart* 2006; 92(6): 804-809
440. Mishra RK, Li Y, DeFilippi C, Fischer MJ, Yang W, Keane M, et al. Association of cardiac troponin T with left ventricular structure and function in CKD. *Am J Kidney Dis* 2013; 61(5): 701-709
441. Nardi E, Cottone S, Mulè G, Palermo A, Cusimano P, Cerasola G. Influence of chronic renal insufficiency on left ventricular diastolic function in hypertensives without left ventricular hypertrophy. *J Nephrol* 2007; 20: 320-328
442. Shan K, Bick RJ, Poindexter BJ, Shimoni S, Letsou GV, Reardon MJ, et al. Relation of tissue Doppler derived myocardial velocities to myocardial structure and beta-adrenergic receptor density in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003; 36: 891-896
443. Michielsen EC, Diris JH, Kleijnen VW, Wodzig WK, Van Dieijen-Visser MP. Investigation of release and degradation of cardiac troponin T in patients with acute myocardial infarction. *Clin Biochem* 2007; 40: 851-855
444. Bates KJ, Hall EM, Fahie-Wilson MN, Kindler H, Bailey C, Lythall D, et al. Circulating immunoreactive cardiac troponin forms determined by gel filtration chromatography after acute myocardial infarction. *Clin Chem* 2010; 56: 952-958
445. Cauthen CA, Lipinski MJ, Abbate A, Appleton D, Nusca A, Varma A, et al. Relation of Blood Nitrogen to Long-Term Mortality in Patients With Heart Failure. *J Cardiol* 2008; 101: 1643-1647

446. Kirtane AJ, Leder DM, Waikar SS, Chertow GM, Ray KK, Pinto DS, et al. Serum blood urea nitrogen as an independent marker of subsequent mortality among patients with acute coronary syndromes and normal to mildly reduced glomerular filtration rates. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1781–1786
447. Smith GL, Shlipak MG, Havranek EP, Foody JM, Masoudi FA, Rathore SS, et al. Serum urea nitrogen, creatinine, and estimators of renal function: mortality in older patients with cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1134–1142
448. Gotch FA, Sargent JA. A mechanistic analysis of the National Cooperative Dialysis Study (NCDS). *Kidney Int* 1985; 28: 526–534
449. Stosovic M, Stanojevic M, Simic-Ogrizovic S, Jovanovic D, Djukanovic Lj. Relation between Serum Urea and Mortality of Hemodialysis Patients Urea and Mortality of Hemodialysis Patients. *Renal Fail* 2009; 31: 335-340
450. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999; 341: 577–585
451. Pupim LB, Caglar K, Hakim RM, Shyr Y, Ikizler TA. Uremic malnutrition is a predictor of death independent of inflammatory status. *Kidney Int* 2004; 66: 2054–2060
452. Kovesdy CP, Kalantar Zadeh K. Why is protein-energy wasting associated with mortality in chronic kidney disease? *Seminar Nephrol* 2009; 29(1): 3-14
453. Molnar MZ, Streja E, Kovesdy CP, Budoff MJ, Nissenson AR, Krishnana M, et al. High platelet count as a link between renal cachexia and cardiovascular mortality in end-stage renal disease patients. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(3): 945-954
454. Kim MK, Kim B, Lee JY, Kim JS, Han B-G, Choi SO, et al. Tissue Doppler-derived E/e' ratio as a parameter for assessing diastolic heart failure and as a predictor of mortality in patients with chronic kidney disease. *Korean J Intern Med* 2013; 28(1): 35-44
455. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001; 38(4): 938–942

456. Block GA, Raggi P, Bellasi A, Kooienga L, Spiegel DM. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney International* 2007; 71(5): 438–441
457. Wang AY, Ho SS, Wang M, Liu EK, Ho S, Li PK et al. Cardiac valvular calcification as a marker of atherosclerosis and arterial calcification in end-stage renal disease. *Arch Intern Med* 2005; 165: 327-332
458. Bellasi A, Ferramosca E, Ratti C, Block G, Raggi P. Cardiac valve calcification is a marker of vascular disease in prevalent hemodialysis patients. *J Nephrol* 2012; 25(2): 211-218
459. Ventura JE, Tavella N, Romero C, Petraglia A, Báez A, Muñoz L. Aortic valve calcification is an independent factor of left ventricular hypertrophy in patients on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(10): 1795-1801
460. Ohara T, Hashimoto Y, Matsumura A, Suzuki M, Isobe M. Accelerated Progression and Morbidity in Patients With Aortic Stenosis on Chronic Dialysis. *Circ J* 2005; 69: 1535-1539
461. Carr SJ, Bavanandan S, Fentum B, Ng L. Prognostic potential of brain natriuretic peptide (BNP) in predialysis chronic kidney disease patients. *Clin Sci* 2005; 109: 75-82
462. Sakuma M, Nakamura M, Tanaka F, Onoda T, Itai K, Tanno K, et al. Plasma B-Type Natriuretic Peptide Level and Cardiovascular Events in Chronic Kidney Disease in a Community-Based Population. *Circ J* 2010; 74: 792-797
463. Zhou W, Ni Z, Yu Z, Shi B, Wang Q. Brain natriuretic peptide is related to carotid plaques and predicts atherosclerosis in pre-dialysis patients with chronic kidney disease. *Eur J Intern Med* 2012; 23(6): 539-544
464. Austin WJ, Bhalla V, Hernandez-Arce I, Isakson SR, Beede J, Clopton P, et al. Correlation and Prognostic Utility of B-Type Natriuretic Peptide and Its Amino-Terminal Fragment in Patients With Chronic Kidney Disease. *Clin Chem* 2006; 126: 506-512
465. Horii M, Matsumoto T, Uemura S, Sugawara Y, Takitsume A, Ueda T, et al. Prognostic value of B-type natriuretic peptide and its amino-terminal proBNP

- fragment for cardiovascular events with stratification by renal function. *J Cardiol* 2013; 61: 410-416
466. Paniagua R, Amato D, Mujais S, Vonesh E, Ramos A, Correa-Rotter R, et al. Predictive Value of Brain Natriuretic Peptides in Patients on Peritoneal Dialysis: Results from the ADEMEX Trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(2): 407-415
467. Svensson M, Gorst-Rasmusen A, Schmidt EB, Jorgensen K, Christensen JH. NT-pro-BNP is an independent predictor of mortality in patients with and-stage renal disease. *Clin Nephrol* 2009; 71(4): 380-386
468. Guo Q, Barany P, Qureshi AR, Snaedal S, Heimbürger O, Stenvinkel P, et al. N-terminal pro brain natriuretic peptide independently predicts protein-energy wasting and is associated with all-cause mortality in prevalent HD patients. *Am J Nephrol* 2009; 29(6): 516-523
469. Artunc F, Mueller C, Breidthardt T, Twerenbold R, Rettig I, Usta E, et al. Comparison of the diagnostic performance of three natriuretic peptides in hemodialysis patients: which is the appropriate biomarker? *Kidney Blood Press Res* 2012; 36(1): 172-181
470. Sivalingam M, Suresh M, Farrington K. Comparison of B-type natriuretic peptide and NT proBNP as predictors of survival in patients on high-flux hemodialysis and hemodiafiltration. *Hemodialysis Int* 2011; 15: 359-365
471. Paniagua R, Ventura MJ, Avila-Díaz M, Hinojosa-Heredia H, Méndez-Durán A, Cueto-Manzano A, et al. NT-proBNP, fluid volume overload and dialysis modality are independent predictors of mortality in ESRD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 551-557
472. Masson S, Latini R, Anand IS, Vago T, Angelici L, Barlera S, et al. Direct comparison of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in a large population of patients with chronic and symptomatic heart failure: the Valsartan Heart Failure (Val-HeFT) data. *Clin Chem* 2006; 52: 1528-1538
473. Omland T, Sabatine MS, Jablonski KA, Rice MM, Hsia J, Wergeland R, et al. Prognostic value of B-type natriuretic peptides in patients with stable coronary artery disease: the PEACE trial. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 205-214

474. 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
475. Locatelli F, Vigano S. Are natriuretic peptides a reliable marker for mortality in ESRD patients? *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 347-349
476. Iliou MC, Fumeron C, Benoit MO, Tuppin P, Calonge VM, Moatti N, et al. Prognostic value of cardiac markers in ESRD: Chronic Hemodialysis and New Cardiac Markers Evaluation (CHANCE) study. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(3): 513-523
477. Wang AY, Lam CW, Wang M, Chan IH, Goggins WB, Yu CM, et al. Prognostic value of cardiac troponin T is independent of inflammation, residual renal function, and cardiac hypertrophy and dysfunction in peritoneal dialysis patients. *Clin Chem* 2007; 53(5): 882-889
478. Connolly GM, Cunningham R, McNamee PT, Young IS, Maxwell AP. Troponin T is an independent predictor of mortality in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(3): 1019-1025
479. Vichairuangthum K, Leowattana W, Ong-Ajuooth L, Pokum S. The relationship between serum concentration of cardiac troponin I in chronic renal failure patients and cardiovascular events. *J Med Assoc Thai* 2006; 89(5): 714-720
480. Petrovic D, Stojimirovic BB. Cardiac troponins: outcome predictors in hemodialysis patients. *J Artif Organs* 2009; 12(4): 258-263
481. Kalaji FR, Albitar S. Predictive value of cardiac troponin T and I in hemodialysis patients. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2012; 23(5): 939-945
482. Lamb EJ, Kenny C, Abbas NA, John RI, Webb MC, Price CP, et al. Cardiac troponin I concentration is commonly increased in nondialysis patients with CKD: experience with a sensitive assay. *Am J Kidney Dis* 2007; 49(4): 507-516
483. Scheven L, de Jong PE, Hillege HL, Lambers Heerspink HJ, van Pelt LJ, Kootstra JE, et al. High-sensitive troponin T and N-terminal pro-B type natriuretic peptide are associated with cardiovascular events despite the cross-sectional association with albuminuria and glomerular filtration rate. *Euro Heart J* 2012; 33: 2272-2281

484. Hallén J, Madsen L, Ladefoged S, Fagerland MW, Serebruany VL, Agewall S, et al. Incremental value of a combination of cardiac troponin T, N-terminal pro-brain natriuretic peptide and C-reactive protein for prediction of mortality in end-stage renal disease. *Scand J Urol Nephrol* 2011; 45: 151-158
485. Yao Q, Axelsson J, Heimburger O, Stenvinkel P, Lindholm B. Systemic inflammation in dialysis patients with end-stage renal disease: causes and consequences. *Minerva Urol Nephrol* 2004; 56: 237-248;
486. Wang AY, Lam CW, Yu CM, Wang M, Chan IH, Lui SF, et al. Troponin T, left ventricular mass, and function are excellent predictors of cardiovascular congestion in peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2006; 70(3): 444-452
487. Hickman PE, McGill DA, Talaulikar G, Hiremagalur B, Bromley J, Rahman A, et al. Prognostic efficacy of cardiac biomarkers for mortality in dialysis patients. *Intern Med J* 2009; 39: 812-818
488. McGill D, Talaulikar G, Potter JM, Koerbin G, Hickman PE. Over time, high-sensitivity TnT replaces NT-proBNP as the most powerful predictor of death in patients with dialysis-dependent chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 936-939
489. Zabetakis PM, Nissenson AR. Complications of chronic renal insufficiency: beyond cardiovascular disease. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: S31-38
490. Spanaus KS, Kronenberg F, Ritz E, Schlabach R, Fliser D, Hersberger M, 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
491. Locatelli F, Eckardt KU, Macdougall IC, Tsakiris D, Clyne N, Burger HU, et al. Value of N-terminal brain natriuretic peptide as a prognostic marker in patients with CKD: results from the CREATE study. *Curr Med Res Opin* 2010; 26(11): 2543-2552
492. Yasuda K, Kimura T, Sasaki K, Obi Y, Lio K, Yamato M, et al. Plasma B-type natriuretic peptide level predicts kidney prognosis in patients with predialysis chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 3885–3891
493. Hayashi T, Obi Y, Kimura T, Iio K, Sumitsuji S, Takeda Y, et al. Cardiac troponin T predicts occult coronary artery stenosis in patients with chronic

- kidney disease at the start of renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2936-2942
494. Kimura T, Iio K, Obi Y, Hayashi T. Left ventricular hypertrophy in predialysis chronic kidney disease: impact of cardiomyocardial stress markers. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 2007; 49: 1007-1013
495. Lauer MS. Cardiac troponins and renal failure: the evolution of a clinic test. *Circulation* 2005; 112: 2059-2066
496. Vasavada N, Agarwal R. Role of excess volume in the pathophysiology of hypertension in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2003; 64: 1772–1779
497. Liang F, Gardner DG. Autocrine/paracrine determinants of strain-activated brain natriuretic peptide gene expression in cultured cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1998; 273: 14612–14619
498. Phisitkul S, Khanna A, Simoni J, Broglio K, Rajab MH, Wesson DE. Amelioration of metabolic acidosis in patients with low GFR reduced kidney endothelin production and kidney injury, and better preserved GFR. *Kidney Int* 2010; 77: 617-623
499. Brunner-La Rocca HP, Kaye DM, Woods RL, Hastings J, Esler MD. Effects of intravenous brain natriuretic peptide on regional sympathetic activity in patients with chronic heart failure as compared with healthy control subjects. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1221-1227
500. Bongartz LG, Cramer MJ, Doevendans PA, Joles JA, Braam B. The severe cardiorenal syndrome: ‘Guyton revisited.’ *Eur Heart J* 2005; 26: 11–17
501. Spanaus KS, Kollerits B, Ritz E, Hersberger M, Kronenberg F, von Eckardstein A; Mild and Moderate Kidney Disease (MMKD) Study Group. Serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein in diagnostic staging and predicting progression of primary nondiabetic chronic kidney disease. *Clin Chem* 2010; 56(5): 740-749
502. Thorp ML, Johnson ES, Yang X, Petrik AF, Platt R, Smith DH. Effect of anaemia on mortality, cardiovascular hospitalizations and end-stage renal disease among patients with chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)*. 2009; 14(2): 240-246

PRILOG A

LISTA SKRAĆENICA

A - Maksimalna brzina komorskog punjenja u kasnoj fazi dijastole

A' – Maksimalna tkivna brzina mitralnog anulusa u kasnoj dijastoli

ACC - Ameri ki kardiološki koledž (engl. „the American College of Cardiology“)

ACR –Urinarni albumin/kreatinin odnos (engl. “Albumin-to-Creatinine Ratio”)

AHA - Ameri ko kardiološko udruženje (engl. „the American Heart Association“)

AK - Aminokiseline

ANP - Atrijalni natriuretski peptid

Apo A1- Apolipoprotein A1

ASE - Ameri ko društvo za ehokardiografiju (engl. „the American Society of Echocardiography“)

AT1-R – angiotenzinski receptori tip 1

APWV – Brzina propagacije pulsog talasa (engl. “Aortic Pulse Wave Velocity”)

AV fistula – Arteriovenska fistula

BMI – Indeks telesne mase (engl. **B**ody **M**ass **I**ndex)

BNP - B tip natriuretskog peptida (engl. “Brain Natriuretic Peptide”)

CAPD – Kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza

CCr – Klirens endogenog kreatinina

cGMP – Ciklični guanozin mono-fosfat

CNP – C-tip natriuretskog peptida (engl. **C**-type Natriuretic *Peptide*)

CRP – C-reaktivni protein (engl. “**C-Reactive Protein**”)

cTnT – Kardijalni troponin T (engl. “**cardiac Troponin T**”)

cTnI – Kardijalni troponin I (engl. “**cardiac Troponin I**”)

DIM – Debljina intime-medije

DKP – Dijastolni krvni pritisak

DNP - Dendroaspis natriuretski peptid (engl. “**Dendroaspis Natriuretic Peptide**”)

DT – Vreme deceleracije talasa E

E – Maksimalna brzina komorskog punjenja u ranoj fazi dijastole

E' – Maksimalna tkivna brzina mitralnog anulusa u ranoj dijastoli

EDV – End-dijastolni volumen (engl. “**End-Diastolic Volume**”)

EF – Ejekciona frakcija

eNOS – Endotelna azot-monoksid sintetaza

ESC - Evropsko kardiološko društvo (engl. „the **European Society of Cardiology**“)

ESV – End-sistolni volumen (engl. “**End-Systolic Volume**”)

ET-1 – Endotelin-1

FHS – Framingamska studija (engl. “the **Framingham Heart Study**”)

FS – Frakcija skra enja

GFR – Ja ina glomerularne filtracije (engl. “**Glomerular Filtration Rate**”)

Hb - Hemoglobin

HBB – Hroni na bubrežna bolest

Hct - Hematokrit

HDL – Lipoproteini visoke gustine (engl. “**High Density Lipoproteins**”)

hsCRP – Visokosenzitivni C-reaktivni protein (engl. **high-sensitivity C-Reactive Protein**)

ICAM – Intercelularni elijski adhezivni molekul (engl. “**Intercellular Cell Adhesion Molecule**”)

IL-6 – Interleukin 6

IVCT – Izovolumetrijsko vreme kontrakcije

IVRT – Izovolumetrijsko vreme relaksacije

IVSTd - Debljina interventrikularnog septuma u dijastoli (engl. “**InterVentricular Septum Thickness in diastole**”)

KDOQI/NKF – Inicijativa za poboljšanje kvaliteta i ishoda le enja bubrežnih bolesti Ameri ke nacionalne fondacije za bubrege (engl. “**the Kidney Disease Outcomes Quality Initiative of the National Kidney Foundation**”)

KVB – Kardiovaskularna bolest

LDL - Lipoproteini niske gustine (engl. “**Low Density Lipoproteins**”)

Le - Leukociti

LV – Leva komora (engl. **Left Ventricle**)

LVEDD – End-dijastolni dijametar leve komore (engl. “**Left Ventricular End Diastolic Diameter**”)

LVEDP – End-dijastolni pritisak leve komore (engl. “**Left Ventricular End Diastolic Pressure**”)

LVESD – End-sistolni dijametar leve komore (engl. “**Left Ventricular End Systolic Diameter**”)

LVH – Hipertrofija leve komore (engl. “**Left Ventricular Hypertrophy**”)

LVmass – Masa leve komore (engl. “**Left Ventricular Mass**”)

LVMI – Indeks mase leve komore (engl. “**L**eft **V**entricular **M**ass **I**ndex”)

MCP – Protein hemotakti nog privlačna enja monocita (engl. “**M**onocyte
Chemoattractant **P**rotein”)

M-CSF – Faktori koji stimušu kolonije makrofaga (engl. “**M**acrophage **C**olony-
Stimulating **F**actor”)

MDRD – Studija o modifikovanju ishrane u bubrežnim bolestima (engl. the
Modification of **D**iet in **R**enal **D**isease)

MPI - Indeks miokardnog uinka (engl. **M**yocardial **P**erformance **I**ndex)

mRNA – Informaciona ribonukleinska kiselina (engl. “**m**essenger **R**ibo**N**ucleic **A**cid”)

NADPH oksidaza – nikotinamid adenindinukleotid fosfat oksidaza

NF- B – Nuklearni faktor- B (engl. “**N**uclear **F**actor- **B**”)

NHANES III – Istraživačko odeljenje za nacionalno zdravlje i ishranu (engl. the
National **H**ealth and **N**utrition **E**xamination **S**urvey)

NO – azot monoksid

NPR – Receptori natriuretskih peptida (engl. “**N**atriuretic **P**eptide **R**eceptor”)

NT-proBNP – N-terminalni fragment prohormona (engl. “**N-T**erminal **proB**-type
Natriuretic **P**eptide”)

NYHA – Njujorško kardiološko udruženje (engl. “the **N**ew **Y**ork **H**eart **A**ssociation”)

oxLDL – oksidisani lipoproteini niske gustine

PAI-1 - inhibitor aktivatora plazminogena-1 (engl. “**P**lasminogen **A**ctivator
Inhibitor”)

PD – Peritoneumska dijaliza

PGF-1 - prostaglandin F-1

PTH – Paratireoidni hormon

PWTd – Debljina zadnjeg zida leve komore u dijastoli (engl. “**Posterior Wall Thickness in diastole**”)

RNA – Ribonukleinska kiselina

RWT – Relativna debljina zida leve komore (engl. “**Relative Wall Thickness**”)

SKP – Sistolni krvni pritisak

SE – Brzina sedimentacije eritrocita

TDI – Tehnika tkivnog Doppler-a (engl. “**Tissue Doppler Imaging**”)

TF – Tkivni faktor (engl. “**Tissue Factor**”)

TnT – Troponin T

TnI – Troponin I

TNF – Faktor tumorske nekroze alfa (engl. “**Tumor Necrosis Factor-Alpha**”)

TSAT – Zasi enje transferina (engl. “***Transferrin SATuration***”)

VCAM – Vaskularni elijski adhezivni molekul (engl. “**Vascular Cell Adhesion molecule**”)

VLDL – Lipoproteini vrlo niske gustine (engl. “**Very-Low Density Lipoprotein**”)

V' – Maksimalna brzina mitralnog anulusa u sistoli

Vp – Brzina napredovanja protoka krvi kroz levu komoru

WHO – Svetska zdravstvena organizacija (engl. “**the World Health Organization**”)

BIOGRAFIJA

Tirmenštajn Janković dr Biserka je rođena 05. 04. 1961. u Zaječaru, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu u Beogradu 25. 01. 1987. godine sa prosečnom ocenom 9.78. U početku je bila zaposlena kao lekar opšte prakse u Domu Zdravlja ZC Zaječar, a od 1990. godine počinje sa radom na Odeljenju nefrologije i hemodijalize. Specijalistički ispit iz oblasti interne medicine položila je 1994. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu sa odličnim uspehom. Magistrsku tezu pod naslovom “Veza između malnutricije, inflamacije i ateroskleroze kod bolesnika na hemodijalizi” odbranila je 2003. godine na Univerzitetu u Beogradu. Odlukom Ministarstva zdravlja 2005. godine stekla je zvanje primarijus, a 2006. godine dodeljeno joj je mentorstvo iz oblasti interne medicine. Subspecijalistički rad pod nazivom „Kardiovaskularni morbiditet kod asimptomatskih bolesnika u IV i V fazi hronične bubrežne bolesti“ odbranila je 2009. godine i time stekla zvanje subspecijaliste nefrologa. Od 2009. godine angažovana je na poslovima šefa Odseka nefrologije i hemodijalize u Zdravstvenom centru „Zaječar“.

U okviru usavršavanja ovladala je svim aspektima kliničke nefrologije i hemodijalize, sa posebnim fokusom na kardiovaskularnu problematiku bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom, i tehnikom ultrazvučne dijagnostike u nefrologiji. Do sada je aktivno učestvovala u radu više kongresa i simpozijuma iz nefrologije u zemlji i inostranstvu. Objavila je više od trideset autorskih i oko dvadeset koautorskih radova koji su publikovani u nacionalnim ili stranim časopisima, zbornicima u celini ili u vidu sažetaka, a neki od njih su saopšteni na naučnim skupovima u zemlji i inostranstvu. Autor je monografije „MIA sindrom i hemodijaliza“ koju je publikovala Zadužbina Andrejević 2005. godine u ediciji „Posebna izdanja“. Član je Nefrološke sekcije Srpskog lekarskog društva, Udruženja nefrologa Srbije, Udruženja za kardioneфроlogiju Srbije i Evropskog udruženja nefrologije i transplantacije (ERA/EDTA).

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Biserka Tirmenštajn Janković

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Dijagnostički i prognostički značaj kardijalnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27. 02. 2014. godine



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Biserka Tirmenštajn Janković

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada „Dijagnostički i prognostički značaj kardijalnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom”

Mentor Prof. dr Nada Dimković

Potpisani _____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27. 02. 2014. godine



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Dijagnostički i prognostički značaj kardijalnih biomarkera kod asimptomatskih bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

- 1. Autorstvo
- 2. Autorstvo - nekomercijalno
- 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
- 4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
- 5. Autorstvo – bez prerade
- 6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 27. 02. 2014. godine

