

Asimetrični dimetilarginin kao posrednik vaskularne disfunkcije u cirozi

Kruezi, Egon

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:139582>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-25**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Egon Kruezi

**Asimetrični dimetilarginin kao posrednik
vaskularne disfunkcije u cirozi**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Egon Kruezi

**Asimetrični dimetilarginin kao posrednik vaskularne
disfunkcije u cirozi**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Merkur Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc.dr.sc. Anne Mrzljak, dr.med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016/2017

.

Mentor rada: doc.dr.sc. Anna Mrzljak, dr.med

POPIS KRATICA:

ADMA:	asimetrični dimetilarginin (prema engl. asymmetric dimethyl arginine)
BMI:	indeks tjelesne mase (prema engl. body mass index)
CP(A;B;C):	Child-Pugh(A;B;C)
DDAH:	dimetilarginin dimetilaminohidrolaza (prema engl. dimethylarginine dimethylaminohydrolase)
eGFR:	očekivana glomerularna filtracija (prema engl. estimated glomerular filtration rate)
eNOS:	endotelna sintaza dušičnog oksida (prema engl. endothelial nitric oxide synthase)
GUK:	glukoza u krvi
HCC:	hepatocelularni karcinom (prema engl. hepatocellular carcinoma)
INR:	internacionalni normalizirani omjer (prema engl. international normalized ratio)
L-NMMA:	N ^G -metil-L-arginin
MELD:	model za završni stadij jetrene bolesti (prema engl. Model for End-stage Liver Disease)
NO:	dušični oksid

NOS: sintaza dušičnog oksida (prema engl. nitric oxide synthase)

SDMA: simetrični dimetilarginin (symmetric dimethyl arginine)

1.SAŽETAK	1
2.SUMMARY	2
3.UVOD	1
Asimetrični dimetilarginin	1
Ciroza jetre	3
Asimetrični dimetilarginin i dušični oksid u cirozi jetre.....	4
4.METODE	6
Ispitanici	6
Analitičke metode	8
Statističke metode.....	8
5.HIPOTEZA	9
6.CILJEVI RADA.....	9
7.REZULTATI.....	9
Osnovna obilježja bolesnika	9
Obilježja bolesnika prema težini jetrene bolesti	10
Asimetrični dimetilarginin kod bolesnika s cirozom	13
8.RASPRAVA	17
9.ZAHVALA.....	20
10.LITERATURA.....	21
11.ŽIVOTOPIS	26

1.SAŽETAK

Asimetrični dimetilarginin: mediator vaskularne disfunkcije u cirozi

Asimetrični dimetilarginin (ADMA) endogeni je inhibitor skupine enzima koji sudjeluju u sintezi u dušikovog oksida (NO), molekule sa dokazanim vazodilatacijskim učinkom, zbog čega je važan u patofiziologiji procesa vezanih uz endotel krvnih žila. Patološki vaskularni fenomeni vidljivi u cirozi jetre poput portalne hipertenzije, hiperdinamičke cirkulacije i hepatorenalnog sindroma smatraju se povezani sa promjenjenim vrijednostima ADMA i njenim utjecajem na sintezu NO.

Cilj ove studije je istražiti razlike u serumskim koncentracija asimetričnog dimetil arginina u bolesnika s cirozom jetre i utvrditi njegov odnos prema stadijima težine bolesti jetre. Ovo presječno istraživanje provedeno je na 90 odrasla bolesnika predominantno s cirozom jetre alkoholne etiologije u različitim stadijima jetrene bolesti definiranih temeljem Child-Pugh i MELD(Na) skora. Naši rezultati ukazuju da koncentracija ADMA-e u pojedinim skupinama iznosi za CP-A=0,73 ug/l, CP-B=0,80 ug/l, CP-C=0,91 ug/l. Iako su u našem istraživanju nominalno niže vrijednosti AMDA-e (0,73 ug/l) zabilježene kod bolesnika u CP-A kompenziranom stadiju bolesti, a više (0.87 ug/L) kod bolesnika u CP-B+C dekompenziranom stadiju, između skupina nije postignuta statistički značajna razlika ($p=0,207$). Naši podaci ukazuju da postoji slaba pozitivna korelacija između koncentracije ADMA-e u serumu i pojedinih stadija težine bolesti temeljem CP klasifikacije ($r=0.284$, $p=0.007$) kao i srednje jaka pozitivna korelacija s MELD stadijima ($r=0.328$, $p=0.002$).

U zaključku ADMA i NO usko su vezani uz promjene vezane za vaskularni endotel, te su njihove promjene pokazatelji vaskularne disfunkcije. Međutim još uvijek nedovoljno je razjašnjena njihova uloga i mehanizmi vezani uz vaskularnu disfunkciju u cirozi. Uznapredovalo oštećenje u cirozi jetre dovodi do akumulacije ADMA, narušavanjem njezinog normalog metabolizma, Povišene razine ADMA-a mogu doprinijeti progresiji jetrene bolesti stoga regulacija metabolizma ADMA-e može predstavljati potencijalu terapijsku opciju liječenja vaskularne disfunkcije u cirozi, što otvara put mnogim budućim studijama.

Ključne riječi: asimetrični dimetilarginin, dušikov oksid, ciroza jetre

2.SUMMARY

Asymmetric dimethylarginine: mediator of vascular dysfunction in cirrhosis

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of nitric oxide (NO) synthase, a molecule with proven vasodilatory effect, which makes it an important factor in pathophysiological processes of the vascular endothelium. Pathologic vascular phenomena that can be seen in liver cirrhosis, such as portal hypertension, hyperdynamic circulation, and hepatorenal syndrome, are thought to be caused by changes in ADMA plasma concentrations and their effect on NO synthesis.

The aim of this study was to define changes of ADMA plasma levels in patients with cirrhosis and the association of ADMA plasma levels with the severity of liver disease. This cross-sectional study included 90 adult patients with liver cirrhosis, of predominantly alcoholic etiology, with various severity of liver disease determined by the Child Pugh (CP) and MELD(Na) scores. Our results show ADMA levels for different groups of patients: CP-A=0,73 ug/l, CP-B=0,80 ug/l and CP-C=0,91 ug/l. In our study lower ADMA levels (0,73 ug/l) can be seen in patients with compensated liver disease (CP-A) and higher levels (0.87 ug/L) in patients with decompensated liver disease (CP-B+C), but there is no statistically significant difference between the groups ($p=0,207$). Our results also show a weak positive correlation between ADMA serum concentration and severity of disease based on the Child Pugh score ($r=0.284$, $p=0.007$) and a moderate positive correlation with severity of disease based on the MELD score ($r=0.328$, $p=0.002$).

In conclusion, ADMA and NO are closely connected with changes of the vascular endothelium, and they are also indicators of vascular dysfunction. However, their role remains unclear as well as mechanisms of vascular dysfunction in cirrhosis. Advanced liver injury in cirrhosis induces ADMA accumulation due to changes of metabolism. Increased ADMA levels cause progression of liver disease, therefore regulation of the ADMA metabolism could represent an option for treatment of vascular dysfunction in cirrhosis, which would clear the path for more upcoming studies.

Key words: asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, liver cirrhosis

3.UVOD

Asimetrični dimetilarginin

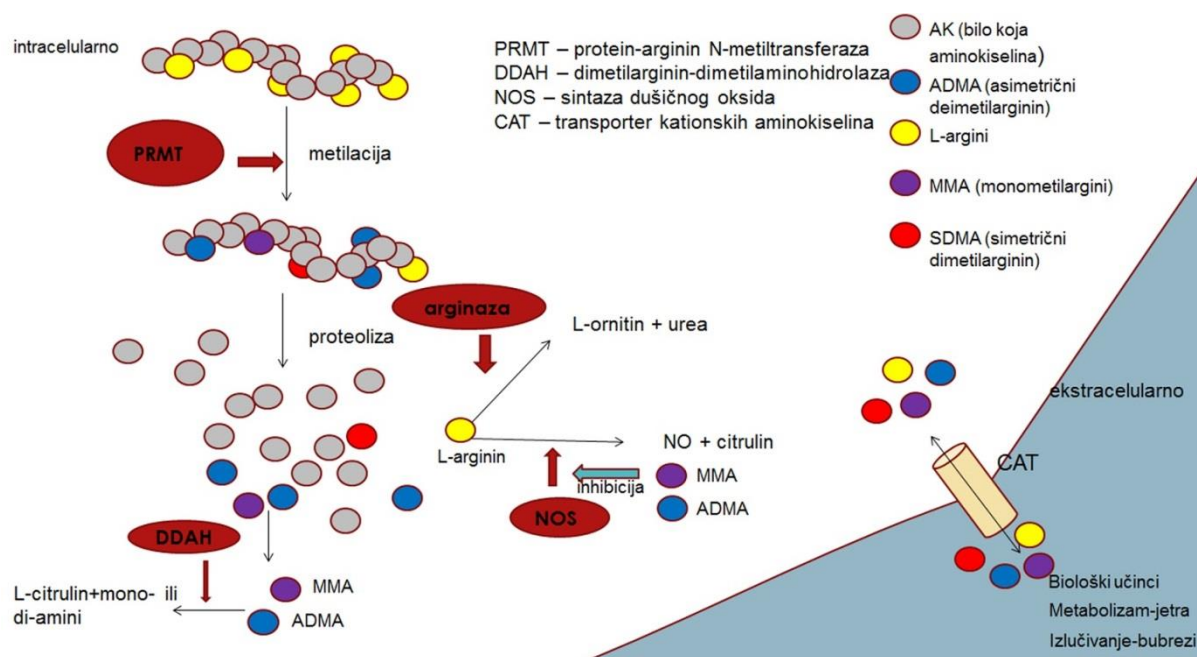
Asimetrični dimetilarginin (ADMA) endogeni je inhibitor skupine enzima koji sudjeluju u sintezi u dušikovog oksida (NO), molekule sa dokazanim vazodilatacijskim učinkom, zbog čega je važan u patofiziologiji procesa vezanih uz endotel krvnih žila.

Dušikov oksid djeluje vazodilatatorno na endotel krvnih žila, utječe na hemostazu inhibirajući kontrakcije i rast glatkih mišića, agregaciju trombocita te adheziju leukocita na endotel (Procter i sur. 2014; Apostoli i sur. 2014; Melki i sur. 2014; Púzserová i sur. 2010). Sintetizira se iz aminokiseline L-arginina pomoću skupine enzima NO sintaza (NOS), čija je aktivnost pod utjecajem endogenih inhibitora poput asimetričnog dimetilarginina (Bredt 1999, Lorna 2008) (Slika 1.).

Metilarginini nastaju proteolizom metiliranih proteina u svim stanicama organizma (Cooke 2004) (Slika 1). Skupini L-arginin analoga pripadaju:

- N^G-metil-L-arginin (L-NMMA)
- N^G,N^G-dimetil-L-arginin (asimetrični dimetilarginin; ADMA)
- N^G,N^G-dimetil-L-arginin (simetrični dimetilarginin; SDMA).

ADMA i L-NMMA su kompetitivni inhibitori NOS, dok SDMA nema učinak na NOS (Vallance i sur. 1992a). Kako je koncentracija ADMA-e u krvi deset puta veća od koncentracije L-NMMA-e, smatra se da je ADMA glavni endogeni regulator L-arginina/NO puta (Vallance i sur. 1992b).



Slika 1. Metabolizam metilarginina (adaptirano prema Zakrzewicz i sur. BMC Pulmonary Medicine 2009)

ADMA se sintetizira proteolizom u svim stanicama organizma, djeluje parakrino inhibirajući NOS čime dovodi do supresije sinteze NO (Lorna 2008) (Slika 1).

ADMA se djelomično izlučuje bubrežima, no glavni put eliminacije je pomoću enzima dimetilarginin dimetilaminohidrolaze (DDAH 1 ili 2), koji ga razgrađuje do citrulina i dimetilamina (Vallance i sur. 1992b). DDAH je prisutna u mnogim tkivima uključujući i jetru (Nijveldt i sur. 2003.) (Slika 1).

ADMA inhibira bazalno otpuštanje NO iz endotela te povisuje tonus perifernih krvnih žila, te se zbog svojih učinaka na krvožilni sustav, ADMA i NO danas smatraju se markerima endotelne disfunkcije.

Uloga AMDA-e prvenstveno je istražena u kardiovaskularnim bolestima gdje se osnovni patofiziološki mehanizam temelji na promjena vezanim uz vaskularni endotel. Dosadašnje studije pokazale su da su povišene vrijednosti ADMA-e neovisan prediktor povišenog kardiovaskularnog rizika i kardiovaskularnih incidenata (Lu i sur. 2003., Asagami i sur. 2002.). Razina ADMA-e također raste starenjem (Asagami i sur. 2002). U kritično oboljelih sa zatajenjem dva ili više organa, ADMA

jak i neovisan rizični faktor mortaliteta (Nijveldt i sur. 2003). Prema ADMA/MOF (MOF; multi organ failure) hipotezi Nijveldta i suradnika jetra ima središnju ulogu kao najvažniji organ za izlučivanje ADMA-e. Ta funkcija jetre može biti kompromitirana faktorima kao što su teška ozljeda organa i oštećenje DDAH aktivnost slobodnim radikalima što se događa u sepsi, traumi i ishemijskim oštećenjima. U ovim slučajevima gubitak jetrene funkcije dovodi do poremećaja u arginin/ADMA omjeru i inhibiciji NOS te posljedičnoj smanjenoj sintezi NO što dovodi malperfuzije mnogih organa uzrokujući multiorgansko zatajenje (Ferrigno i sur. 2015). Bubrežno zatajenje (Vallance i sur. 1992b) i ciroza jetre (Lluch i sur. 2004, Tsikas i sur. 2003.) predstavljaju patološka stanja sa povišenim razinama ADMA-e, a uzrok tomu je svakako sudjelovanje bubrega i jetre u njezinoj eliminaciji.

Ciroza jetre

Porast tlaka u portalnom krvotoku kod ciroze jetre rezultat je strukturnih promjena u samoj jetri, vazoaktivnih mehanizama i posljedičnog porasta splanhičnog priljeva krvi u portalni sustav. Portalna hipertenzija je klinički sindrom koji dovodi do komplikacija poput varikoziteta jednjaka i želuca, ascitesa, portalne encefalopatije i hepatorenalnog sindroma. Svakako glavni čimbenik portalne hipertenzije je povećanje intrahepatalnog otpora protoku krvi zbog strukturnih promjena jetre. Strukturne promjene jetre nastaju kao posljedica kronične upale koja potiče odlaganje kolagena u jetrene režnjeve i uzrokuje suženje sinusoida čime se povećava otpor protoku krvi unutar samih režnjeva. Također kompresija centralnih vena upalnim i regeneracijskim procesima dodatno utječe na porast otpora. Osim strukturalnih promjena na porast portalnog tlaka utječu i vazoaktivni čimbenici (Gupta i sur. 1998.). Njihovo se djelovanje očituje pojačanim tonusom glatkomišićne muskulature i miofibroblasta sinusoida i vena (Bhathal i Grossman 1985) što je posljedica povišene koncentracije brojnih vazokonstriktornih molekula, ali nastaje najviše kao posljedica endotelne disfunkcije koja se očituje smanjenom sintezom NO (Matei i sur. 2006.; Shah i sur. 1997.; Rockey i Chung 1998.; Sarela i sur. 1999.).

Porast splanhičnog protoka je posljedica vazodilatacije splanhičnih arterija (mesenteričnih i slezenskih krvnih žila) i otvaranja porto-sistemskih kolaterala (reperfuzija već postojećih krvnih žila uz nastajanje novih). Povećana sinteza NO u splanhičnom krvotoku se smatra glavnim uzrokom vazodilatacije (Vallance i

Moncada 1991.; Bosh i sur. 1992.; Sogni i sur. 1995.), a dodatno i splanhične angiogeneze. Posljedično nastaje sindrom hiperdinamične cirkulacije koji se očituje povećanim udarnim volumenom srca i frekvencijom srca, smanjenim perifernim otporom i sniženim krvni tlakom (Blendis i Wong 2001.; Garcia-Tsao 2003.). Porto-sistemske kolaterale pridonose nastanku sindroma hiperdinamične cirkulacije, tako što smanjuju periferne rezistenciju i prenoseći vazoaktivne tvari iz crijeva izravno u sistemni krvotok zaobilazeći jetru. Hiperdinamična cirkulacija je osnova za nastanak mnogih komplikacije ciroze kao što su hepato-renalni sindrom, hepato-pulmonarni sindrom, mogućnost razvoja šoka i ishemija. Također sudjeluje direktno i indirektno u nastanku ascitesa i krvarenja iz varikoziteta.

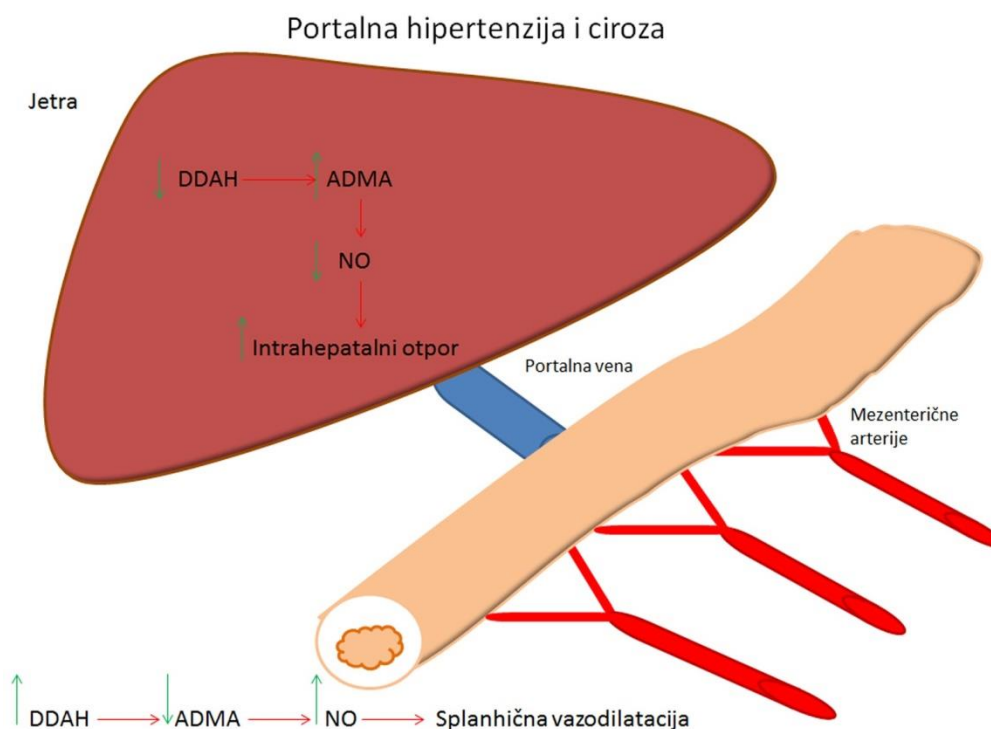
Asimetrični dimetilarginin i dušični oksid u cirozi jetre

Povećana produkcija NO jedan je od glavnih faktora u smanjenju splanhične rezistencije u dekompenziranoj cirozi jetre. Istovremeno koncentracije NO u cirotičnoj jetri su smanjene zbog smanjene aktivnosti eNOS (Slika 2). Dosadašnje studije ukazuju da je u cirozi jetre značajno smanjenja ekspresija jetrene DDAH-1 što ima za posljedicu povišenje koncentracije hepatalne ADMA-e, jaču inhibiciju aktivnosti eNOS i sinteze NO (Gupta i sur. 1998; Sarela i sur. 1999). Smanjenje produkcije NO u endotelu sinusoidnih kapilara cirotične jetre važan je faktor u razvoju portalne hipertenzije (Vairappan 2015; Bolognesi i sur. 2014).

Paradoksalna situacija u cirozi jetre je da nalazimo povišene vrijednosti ADMA-e, endogenog inhibitora eNOS i povišene vrijednosti NO (Slika 2). Postoji nekoliko ponuđenih objašnjenja.

Utvrđeno je da povišena koncentracija NO inhibira aktivnost DDAH, enzima koji razgrađuje AMDA-u, i dovodi do posljedične akumulacije ADMA-e u jetri (Leiper i sur. 2002). Ukoliko se inhibicija DDAH događa u cirozi, to bi moglo objasniti istodobno povećane vrijednosti ADMA/NO.

Inhibiranjem bazalnog otpuštanja NO iz endotela, ADMA povisuje periferni vaskularni otpor (Vallance i sur. 1989) te popravljiva hiporeaktivnost na vazokonstriktore kod portalne hipertenzije. Stoga se smatra da je povišenje razine ADMA-e u cirozi kompenzatorni mehanizam koji dovodi do smanjenja hiperprodukcije NO, kao protuteža ekscesivnoj perifernoj vasodilataciji (Lluch i sur. 2004).



Slika 2. Različit metabolizam asimetričnog dimetilarginina u jetri i splanhičnoj cirkulaciji u portalnoj hipertenziji i cirozi jetri (adaptirano prema Lluch i sur. World J Gastroenterol 2015)

Također problem hiperdinamičke cirkulacije kao posljedice mesenterične vazodilatacije uz povišene sistemske koncentracije ADMA-e u cirozi nije razjašnjen (Lluch i sur. 2004; Mookerjee i sur. 2007; Laleman i sur. 2005; Tain i sur. 2010). Porast ADMA-e ne inhibira eNOS i proizvodnju NO u splanhičnim endotelnim stanicama, iako se upravo suprotno događa u jetri (Langer & Shah 2005).

U istraživanju na štakorima sa cirozom jetre i portalnom hipertenzijom ustanovljeno je da smanjena mogućnost inhibicije NOS je povezana sa pojačanom ekspresijom DDAH i posljedično većom razgradnjom ADMA-e. Pojačana ekspresija DDAH predložena je kao novi mehanizam nastanka NO hipeprodukcije, mesenterične vazodilatacije i hiperdinamske cirkulacije (Serna i sur. 2013).

Hepatorenalni sindrom teška je komplikacija ciroze jetre, radi se o funkcionalnom zatajenju bubrega uz promjene u sistemske cirkulaciji. Do gubitka funkcije bubrega dolazi zbog redukcije bubrežnog protoka uzrokovanog vazokonstriktornim djelovanjem simpatikusa, renin-angiotenzinskog sustava i arginin-vazopresina čija

pojačana aktivnost je posljedica vazodilatacije splanhičnog sustava odnosno pada perifernog otpora (Serna i sur. 2013). Nakupljanje ADMA-e u cirkulaciji, kao posljedica gubitka jetrene funkcije, ima značajan učinak na bubrežno zatajenje, inhibirajući sintezu NO dolazi do promjena renalne perfuzije i glomerularne filtracije (Nijveldt i sur. 2003b). ADMA uzrokuje kontrakciju renalnih arterija i posljedično dovodi do smanjena renalne perfuzije i povećanja renovaskularne rezistencije što uzrokuje funkcionalno zatajenje bubrega (Lluch i sur. 2006).

Dosadašnje studije ukazuju da bolesnici sa dekompenziranom cirozom jetre imaju više razine ADMA-e i NO u usporedbi sa zdravima kao i onima sa kompenziranom oblikom bolesti (Lluch i sur. 2004). Lluch i suradnici u svom radu na 20 bolesnika s alkoholnom cirozom jetre, pokazali su da postoji pozitivna korelacija koncentracije ADMA/NO i kliničkog stanja bolesnika. Studija je pokazala da postoji negativna korelacija između ADMA-e i NO u skupini zdravih kao i kompenziranih bolesnika, dok kod dekompenziranih bolesnika nije uvrđena korelacija između ADMA-e i NO. Autori zaključuju da povišenje ADMA-e i NO u dekompenziranih može predstavljati odgovor na jetreno oštećenja (Lluch i sur. 2004). Povišene vrijednosti ADMA-e u ovoj studiji ne mogu se pripisati bubrežnom zatajenju jer su razine kreatinina u sve tri grupe pacijenta (kontrolna grupa tj. zdravi, sa kompenziranom alkoholnom cirozom i dekompenziranom alkoholnom cirozom) bile podjednake (Lluch i sur. 2004).

Dosadašnje studije na populaciji s transplantiranom jetrom ukazuju da se značajno povišene preoperativne razine ADMA-e snizuju već prvi dan nakon transplantacije (Martin-Sanz i sur. 2003).

4.METODE

Ispitanici

U ovu presječenu studiju uključena su 90 odrasla bolesnika sa cirozom jetre. Prijedlog i provedbu istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Merkur Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Istraživanje je provedeno uz poštivanje etičkih načela i bioetičkih principa koji su u skladu s Nürnberškim kodeksom i najnovijom revizijom Helsinške deklaracije (World Medical Association 2013).

Uključni kriteriji za studiju bili su: dob bolesnika (≥ 18), ciroza jetre neovisno o etiologiji bolesti te potpisan informativni pristanak.

Ciroza jetre definirana je pomoću histološkog nalaza jetre i/ili kliničkih i morfoloških pokazatelja.

Podaci bolesnika prikupljeni su tijekom protokolarnih kontrola, a uključivali su podatke iz medicinske dokumentacije, kliničkog pregleda i laboratorijskih analiza.

Podaci dobiveni iz medicinske dokumentacije sačinjavali su; spol, dob, primarnu bolest jetre (alkohol, virusne bolesti, autoimune bolesti, metaboličke bolesti, sve druge etiologije i malignome jetre).

Svim bolesnicima u studiji na dan kontrole učinjen je kompletan klinički pregled, s posebnim osvrtom na komplikacije jetrene bolesti poput encefalopatije i ascitesa koji su ragirani u tri osnovna stadija (ascites: (1) nema, (2) blag, (3) umjeren; encefalopatija: (1) nema, (2) stadiji 1-2, (3) stadiji 3-4).

Za procjenu težine bolest jetre korišten je MELD bodovni sustav koji se temelji na niže navedenoj formuli (Edwards i Haper 2001.).

$$\text{MELD Score (2016)} = \text{MELD}(i) + 1.32 \cdot (137 - \text{Na}) - [0.033 \cdot \text{MELD}(i) \cdot (137 - \text{Na})]$$

$$\text{MELD}(i) = 0.957 \times \log(\text{kreatinin mg/dL}) + 0.378 \times \log(\text{bilirubin mg/dL}) + 1.120 \times \log(\text{INR}) + 0.643$$

Bolesnici su podijeljeni u tri osnovne kategorije težine jetrene bolesti temeljem Child Pugh klasifikacije (Pugh i sur. 1973). Child Pugh klasifikaciju sačinjavaju ga dva klinička parametra ascites i encefalopatija, te tri laboratorijska parametra bilirubin, albumini i INR kojima se dodijelju bodovi od 1 do 3 (Tablica 1). Zbroj bodova kategorizira bolesnike u tri osnovne težine CP-A (5-6), CP-B (7-9), CP-C (10-15).

Tablica1. Child-Pugh klasifikacija

Child Pugh klasifikacija težine ciroze jetre			
parametri	Bodovi		
	1	2	3

bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	<34.2	34.2-51.3	>51.3
albumin (g/L)	>35	28-35	<28
INR	<1.7	1.7-2.2	>2.2
ascites	nema	blag	umjeren
encefalopatija	nema	1-2	3-4
Child Pugh A= 5-6, Child Pugh B=7-9, Child Pugh C=10-15			

Analitičke metode

Uzorci venske krvi sakupljeni su punkcijom kubitalne vene u odgovarajuće epruvete. Rutinske laboratorijske analize (glukoza, bilirubin, kreatinin, PV-INR, albumini, Na) izvršene su u svježim uzorcima biološkog materijala standardiziranim laboratorijskim postupcima u akreditiranom laboratoriju (ISO 15189:2012 Medical laboratories - Requirements for quality and competence") Kliničke bolnice Merkur.

Uzorci seruma za određivanje ADMA-e odvojeni su nakon centrifugiranja od staničnog dijela krvi, najkasnije 1 sat nakon uzorkovanja i pohranjeni u zamrzivač (-80°C) do analize. Koncentracija ADMA u serumu izmjerena je validiranim enzimimunokemijskim postupkom s deklariranim očekivanim vrijednostima u rasponu od 0,40-0,75 $\mu\text{mol/L}$ i osjetljivošću 0,05 $\mu\text{mol/L}$ (Schulze F i sur. 2004) u laboratoriju Kliničke bolnice Merkur.

Statističke metode

Statistička analiza provedena je pomoću programskog paketa SPSS verzija 17.01. Normalnost raspodjele testirana je Shapiro-Wilksovim testom. Testiranje razlika numeričkih varijabli (npr. dob) između grupa, provedeno je parametrijskim testom (t-test, ANOVA) kod normalne raspodjele, a kod odstupanja od normale, neparametrijskim testom (Mann-Whitney testom, Kruskal-Wallis). Korelacije između varijabli testirane su Spearman rank testom. Numeričke varijable prikazane su kao srednja vrijednost i standardna devijacija, te ukoliko je bilo potrebno i raspon. Testiranje razlika kategorijskih varijabli (npr. spola) između grupa provedeno je χ^2 testom. Podaci su prikazani grafički i tabelarno. Razina statističke značajnosti za ovo istraživanje određena je na $p < 0,05$.

5.HIPOTEZA

Serumske vrijednosti asimetričnog dimetilarginina kod bolesnika s cirozom jetre korelirati će s težinom jetrene bolesti. Bolesnici s dekompenziranim oblicima jetrene bolesti imati će više razine ADMA-e u odnosu na bolesnike sa kompenziranim oblikom bolesti.

6.CILJEVI RADA

Cilj ove studije je istražiti razlike u serumskim koncentracija asimetričnog dimetil arginina u bolesnika s cirozom jetre i utvrditi njegov odnos prema stadijima težine bolesti jetre.

7.REZULTATI

Osnovna obilježja bolesnika

U ovu studiju uključeno je 90 odraslih bolesnika sa cirozom jetre. Istraživanu kohortu sačinjavalo je 69 (76.7%) muškaraca i 21 (23.3%) žena, prosječne starosti 57.18 ± 8.6 godina (raspon od 30 do 73 godina) (Tablica 1.).

Etiologija bolesti jetre u većine bolesnika 52 (57.8%) je alkoholna bolest jetre. Raspodjela etiologija ostalih jetrenih bolesti je sljedeća: virusne bolesti jetre 22 (24.4%), autoimune bolesti jetre 7 (7.8%), 9 (10%) kriptogena bolest jetre. U gotovo trećine bolesnika 24 (26,7%) uz osnovnu bolest jetre bio je prisutan hepatocelularni karcinom (Tablica 2.)

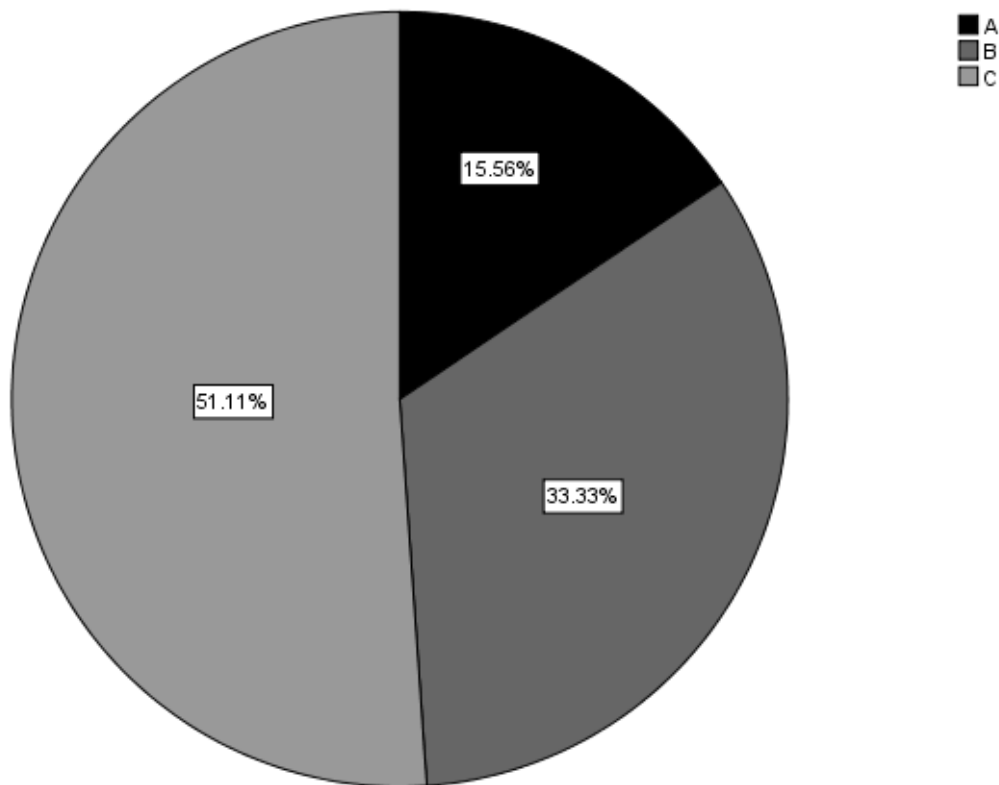
Tablica 2. Osnove karakteristike ispitivane populacije (N=90).

Karakteristike	Vrijednosti
Dob (godina) sr.vrij \pm SD	57.18 ± 8.6

Spol n(%), m/ž	69 (76.7%)/21 (23.3%)
Etiologija bolesti jetre n(%)	
alkoholna bolest	52 (57.8%)
virusne bolesti	22 (24.4%)
autoimune bolesti	7 (7.8%)
kriptogena bolest jetre	9 (10%)
Maligne bolesti (HCC)	24 (26.7%)

Obilježja bolesnika prema težini jetrene bolesti

Bolesnici su temeljem Child Pugh klasifikacije svrstani u tri osnovne skupine težine jetrene bolesti (A, B i C) (Tablica 1.). Raspodjela skupina čitave kohorte bila je sljedeća: 14 (15.6%) CP-A, 30 (33.3%) CP-B, a 46 (51.1%) CP-C stadiji ciroze (Slika 3.). Većina bolesnika 76 (84.4%) u studiji imali su dekompenzirani oblik jetrene bolesti (CP-B+C).



Slika 3. Raspodjela bolesnika prema težini jetrene bolesti, temeljem Child Pugh klasifikacije (A, B, C)

Bolesnici se između pojedinih CTP skupina nisu razlikovali po dobi, BMI, etiologiji, razini glikemije i burežnoj funkciji ($p=ns$) (Tablica 3.).

Statistički značajne razlike između skupinama zabilježene su za sve ostale promatrane parametre (Tablica 3.)

Vrijednosti INR značajno su se razlikovale između skupinama, bolesnici u CP-C su imali statistički značajno više vrijednosti (1.7 ± 0.4) u odnosu na CP-A (1.3 ± 0.1) (C vs A $p=0.000$), te u odnosu na skupinu bolesnika CP-B (1.4 ± 0.2) (C vs B $p=0.000$).

Bolesnici u CP-C stadiju ciroze imali su statistički značajno niže vrijednosti natrija (131 ± 6 mmol/L) u serumu u odnosu na ostale skupine (C vs B $p=0.007$; C vs A

p=0.000), dok bolesnici u stadiju B (135 ± 4 mmol/L) nemaju statistički značajnu razliku u odnosu na vrijednosti Na (138 ± 3 mmol/L) u A stadiju (p=0.191).

Bolesnici u stadiju C imali su statistički značajno više vrijednosti bilirubina u serumu (69 ; $36-605\mu\text{mol/L}$) u odnosu na skupinu A (21 ; $7-47\mu\text{mol/L}$) (p=0,002), dok između ostalih skupina nije zabilježena statistički značajna razlika u vrijednostima serumskog bilirubina (A vs B p= 0.094; B vs C p= 0.144).

Vrijednosti albumina u serumu bile su najviše u skupini A, 40 ± 5 g/L (A vs B p=0.000; A vs C p=0.000), također su se između B (33 ± 9 g/L) i C (27 ± 5 g/L) skupine vrijednosti albumina značajno razlikovale (p=0.000).

Bolesnici u C stadiju bolesti imali su značajno veće MELD skorove (23 ± 6) u odnosu na druge skupine (C vs B p=0.000, C vs A p=0.000), kao i bolesnici skupine B (17 ± 5) u odnosu na A (11 ± 3) skupinu ciroze (p=0.000).

Tablica 3. Klinički i laboratorijski nalazi za pojedine CP skupine bolesnika

Karakteristike	CTP-A (n=14)	CTP-B (n=30)	CTP-C (n=46)	p
dob, sr.vrij\pmSD (god)	60 \pm 4	56 \pm 10	57 \pm 9	0.44
BMI, sr.vrij\pmSD (kg/m²)	27.49 \pm 4.14	26.24 \pm 4.07	26.75 \pm 4.46	0.66
etiologija alkohol, n (%)	6(42.9)	17 (56.7)	29 (63.0)	0.41
INR, sr.vrij\pmSD	1.3 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2	1.7 \pm 0.4	<0.001
Na, sr.vrij\pmSD (mmol/L)	138 \pm 3	135 \pm 4	131 \pm 6	0.000
GUK, sr.vrij\pmSD (mmol/L)	6.3 \pm 1.1	6.1 \pm 2.7	5.5 \pm 0.8	0.14
Kreatinin, sr.vrij\pmSD	73 \pm 12	85 \pm 50	105 \pm 69	0.13

($\mu\text{mol/L}$)				
eGFR, sr.vrij\pmSD (mL/min./1.73m²)	95.58 \pm 18.88	101.78 \pm 39.90	83.36 \pm 36.56	0.08
Bilirubin, medijan (raspon) ($\mu\text{mol/L}$)	23(7-47)	66(7-390)	108(36-605)	0.01
Albumin, sr.vrij\pmSD (g/L)	40 \pm 5	33 \pm 9	27 \pm 5	<0.001
MELD, sr.vrij\pmSD	11 \pm 3	17 \pm 5	23 \pm 6	<0.001

Asimetrični dimetilarginin kod bolesnika s cirozom

Koncentracija ADMA u serumu svim bolesnika iznosile su 0.85 ug/L, (CI[0.77-0.92], SD=0,36).

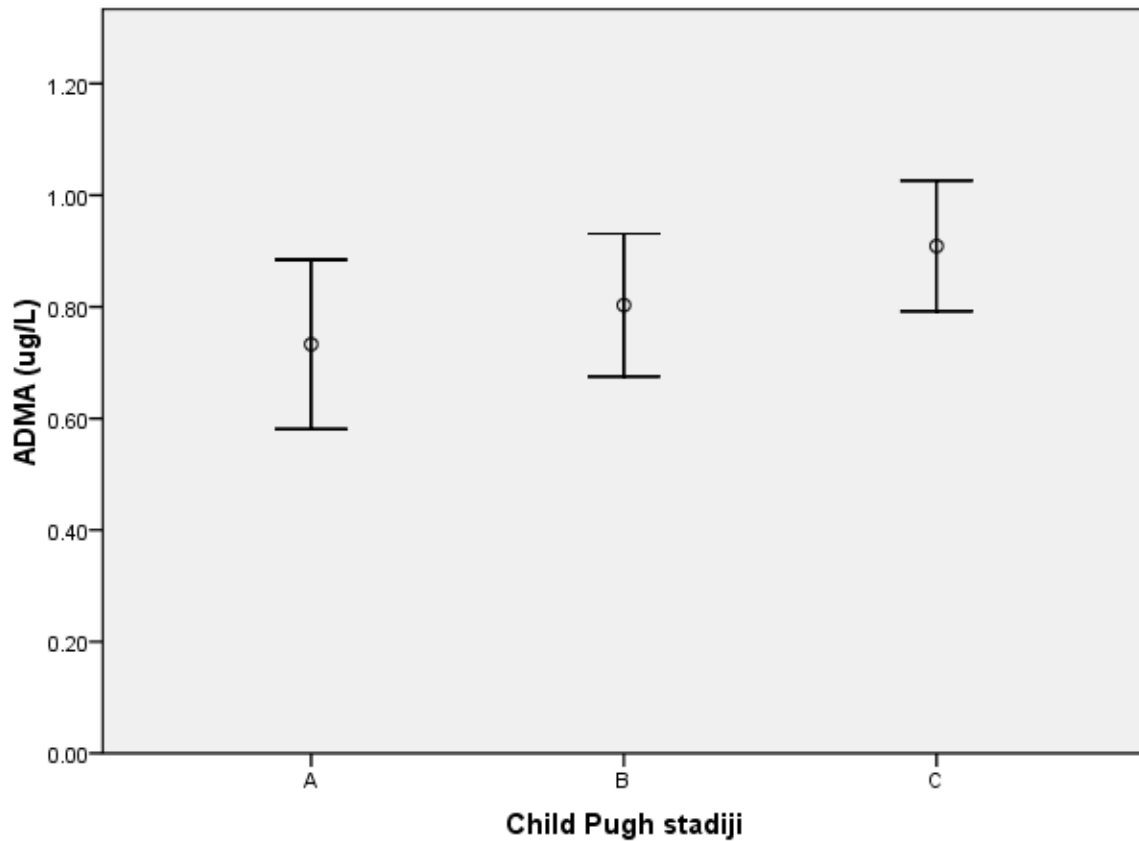
Koncentracija ADMA u pojedinim skupinama iznosila je: CP-A=0,73 ug/l (CI[0.58-0.89], SD=0,26); CP-B= 0,80 ug/l (CI[0.68-0.93], SD=0,34); CP-C=0,91 ug/l (CI[0.79-1.03], SD=0,39) (Tablica 4.).

Tablica 4. Koncentracija ADMA-e u serumu bolesnika s cirozom prema CP stadijima

ADMA	CP-A	CP-B	CP-C	p
koncentracija ug/L	0.73	0.80	0.91	0.207
95% CI*	0.58-0.89	0.68-0.93	0.79-1.03	
standardna devijacija	0.26	0.34	0.39	

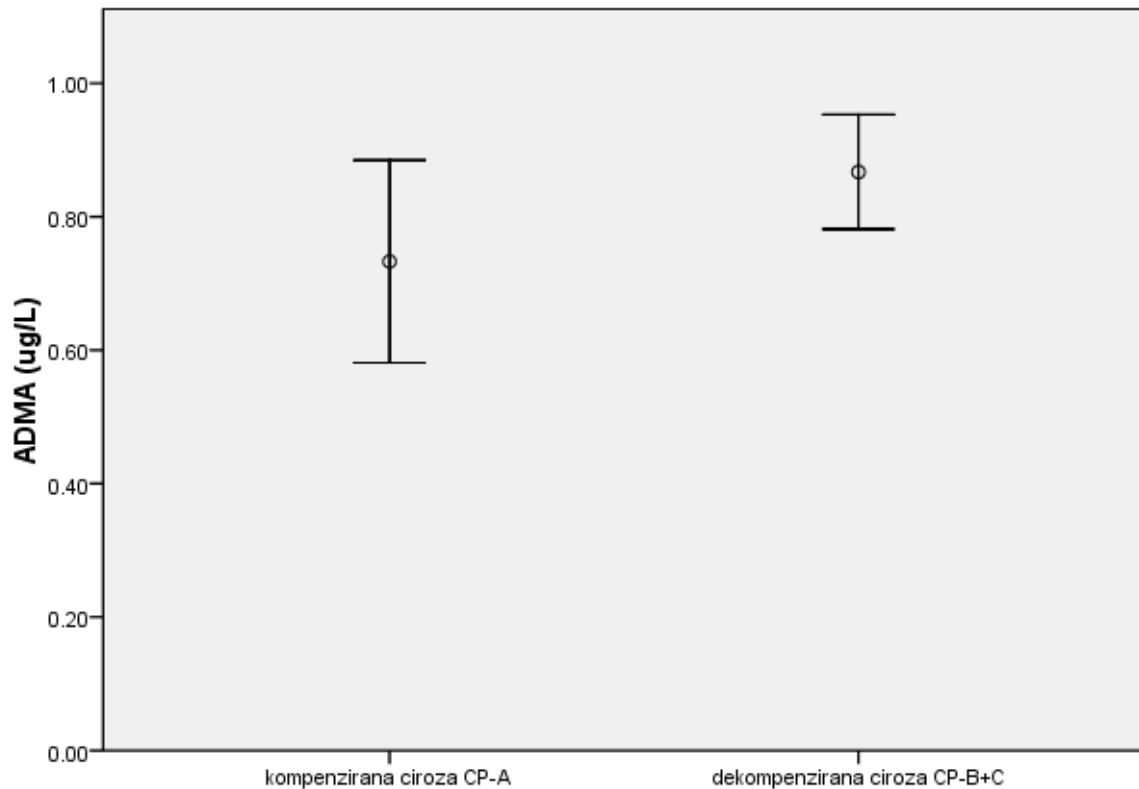
*95% interval pouzdanosti

Iako su nominalno najniže vrijednosti AMDA-e zabilježene kod bolesnika u CP-A stadiju, a najviše kod bolesnika u CP-C stadiju, između skupina nije postignuta statistički značajna razlika (p= 0,207). (Slika 4.).



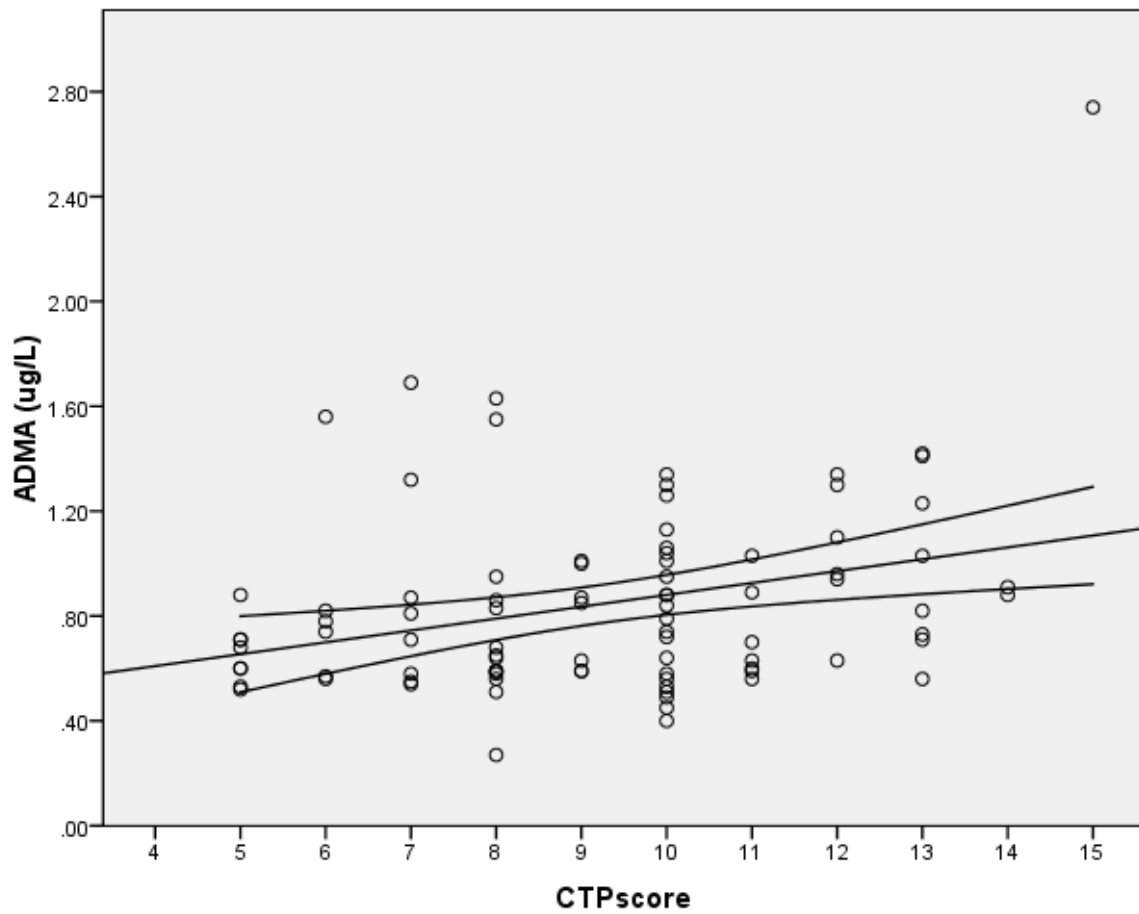
Slika 4. Koncentracija ADMA-u serumu bolesnika s cirozom prema stadijima bolesti (prikazana srednja vrijednost s 95% intervalom pouzdanosti)

Koncentracija ADMA-e u skupini kompenziranih bolesnika s cirozom (CP-A) iako je bila nominalno niža nije se statistički značajno razlikovala od bolesnika s dekompenziranim oblikom jetrene bolesti (CP-B + CP-C) 0.87 ug/L (CI[0,78-0,95], SD=0,38) (Slika 5.).

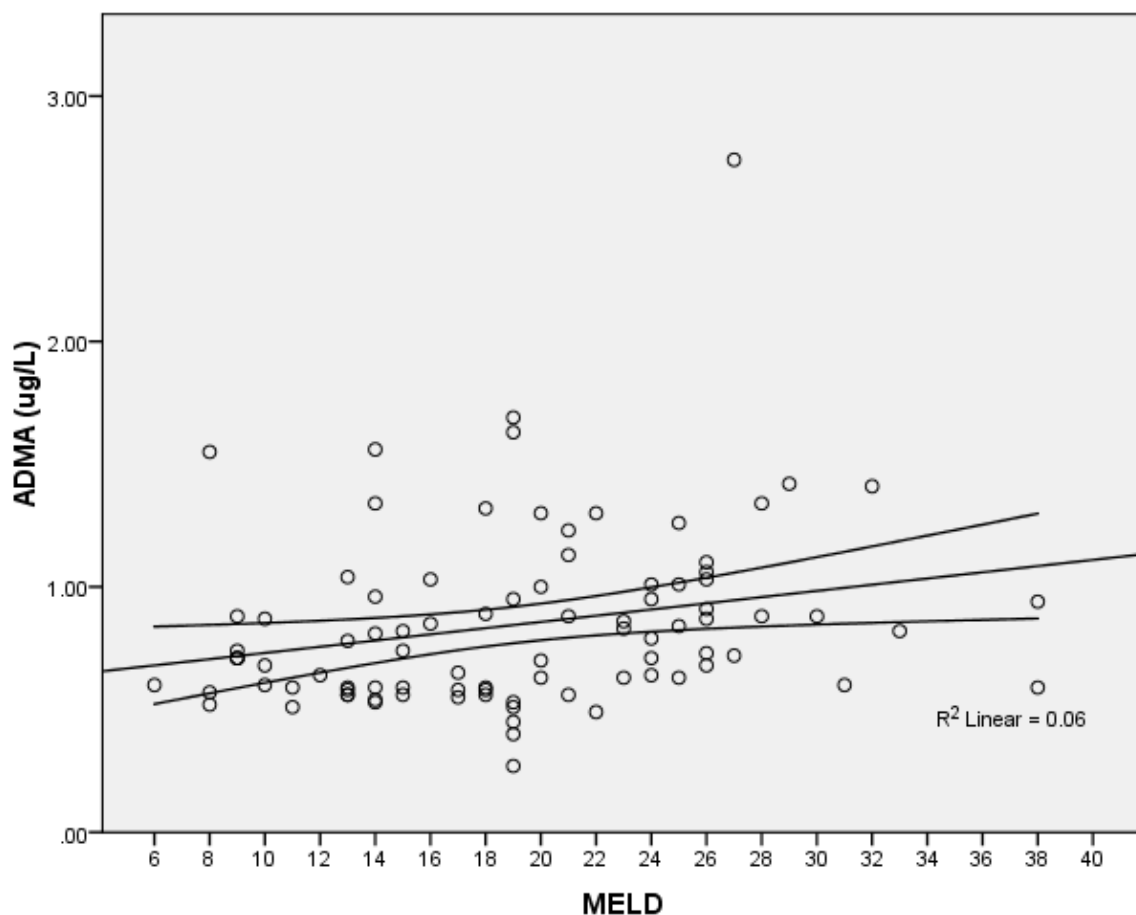


Slika 5. Koncentracija ADMA-u serumu bolesnika s kompenziranom cirozom jetrene u odnosu na dekompenziranu cirozu (prikazana srednja vrijednost sa 95% intervalom pouzdanosti)

U testiranoj skupini od 90 bolesnika sa cirozom postojala je slaba pozitivna korelacija između koncentracije ADMA-e u serumu i pojedinih stadija težine bolesti temeljem CP klasifikacije ($r=0.284$, $p=0.007$) (Slika 6.) s srednje jaka s MELD stadijima ($r=0.328$, $p=0.002$) (Slika 7.).



Slika 6. Korelacija između razine AMDA-e u serumu i CP stadija bolesti bolesnika s cirozom (Spearmanov test, $r=0.284$, $p=0.007$)



Slika 7. Korelacija između razine AMDA-e u serumu i MELD scorova bolesnika s cirozom (Spearmanov test, $r=0.328$, $p=0.002$)

8. Rasprava

Asimetrični dimetilarginin (ADMA) endogeni je inhibitor skupine enzima koji sudjeluju u sintezi u dušikovog oksida, molekule s poznatim vazodilatatornim djelovanjem. Promjene na krvnim žilama očituju se promjenama razina ADMA-e i NO, zbog čega se ove molekule danas smatraju markerima endotelne disfunkcije.

Uloga AMDA-e uvelike je istražena kod kardiovaskularnih bolesti gdje se upravo osnovni patofiziološki mehanizam temelji na promjena vezanim uz vaskularni

endotel. Pokazalo da su povišene vrijednosti ADMA-e neovisan prediktor povišenog kardiovaskularnog rizika i incidenata (Lu i sur. 2003., Asagami i sur. 2002.).

Progresivni razvitak fibroze u jetri, nevisno o etiologiji, dovodi promjena koje se odražavaju na krvnim žilama. Povećanje tlaka u veni porte nastaje zbog povećanog intrahepatičnog otpora uslijed stukturanih promjena zbog odlaganja kolagena, ali i vazoaktivnih mehanizama koje dovode endotelne disfunkcije. Ujedno zbog vazodilatacije i stvaranja kolateralne cirkulacije dolazi do povećanja splahnhičkog protoka koji pogoršava i održava portalnu hipertenziju. Splanhnična vazodilatacija dovodi do stanja hiperdinamske cirkulacije karakteriziranim povećanim srčanim udarnim volumenom i frekvencijom te smanjenom sistemnom vaskularnom rezistencijom s niskim arterijskim tlakom.

Dušični oksid zbog svojeg vazodilatacijskog učinka, važan je u održavanju normalne periferne vaskularne rezistencije. Smatra se da promjene njegove koncentracije u cirozi uzrokuju fenomene poput hiperdinamičke cirkulacije uslijed mesenterične vazodilatacije, te sudjeluju u razvitku portalne hipertenzije i hepatorenalnog sindroma.

Kako ADMA ima učinak na sintezu NO njezin učinak u tim fenomenima je također relevantan.

Dosadašnja istraživanja pokazala su da ciroza jetre predstavlja patološko stanje sa povišenim razinama ADMA-e (Lluch i sur. 2004, Tsiakas i sur 2003).

Cilj ove studije bio je istražiti razlike serumskih koncentracija asimetričnog dimetil arginina u bolesnika s cirozom i utvrditi njegov odnos prema kliničkim stadijima težine bolesti jetre.

Ovo presječno istraživanje provedeno je na 90 odrasla bolesnika predominantno s cirozom jetre alkoholne etiologije u različitim stadijima jetrene bolesti definiranih temeljem Child-Pugh i MELD(Na) skora. U prethodnoj studiji Llucha i suradnika na uzorku od 20 bolesnika sa alkoholnom cirozom utvrđeno je da dekompenzirani bolesnici imaju značajno više koncentracije ADMA-e u usporedbi sa kompenziranima (Lluch i sur. 2004.). Naši rezultati ukazuju da koncentracija ADMA-e u pojedinim skupinama iznosi za CP-A=0,73 ug/l, CP-B=0,80 ug/l, CP-C=0,91 ug/l. Iako su u

našem istraživanju nominalno niže vrijednosti AMDA-e (0,73 ug/l) zabilježene kod bolesnika u CP-A kompenziranom stadiju bolesti, a više (0.87 ug/L) kod bolesnika u CP-B+C dekompenziranom stadiju, između skupina nije postignuta statistički značajna razlika ($p=0,207$) (Slika 5.). Naši podaci ukazuju da postoji slaba pozitivna korelacija između koncentracije ADMA-e u serumu i pojedinih stadija težine bolesti temeljem CP klasifikacije ($r=0.284$, $p=0.007$) kao i srednje jaka pozitivna korelacija s MELD stadijima ($r=0.328$, $p=0.002$) (Slike 6. i 7.). To govori u prilog dosadašnjih studija na manjem brojem bolesnika s alkoholnom cirozom kao i studije na 90 bolesnika s cirozom različitih etiologija, koji ukazuju na pozitivnu korelaciju između ADMA-e i kliničkih stadija ciroze temeljenih na CP klasifikaciji ili MELD scoru (Lluch i sur. 2004. Bajaj i sur. 2013). Objašnjenje porasta ADMA-e pogoršanjem ciroze temelji se na studijama koje ukazuju da je u cirozi je značajno smanjenja ekspresija jetrene DDAH-1, glavnog enzima koji razgrađuje ADMA-u. To ima za posljedicu povišenje koncentracije hepatalne ADMA-e, jaču inhibiciju aktivnosti eNOS i sinteze NO koji je važan je faktor u razvoju portalne hipertenzije (Gupta i sur. 1998; Sarela i sur. 1999). Međutim paradoksalno u cirozi povišene su razine obje molekule, i NO i ADMA-e, stoga ovo naše istraživanje treba nadalje proširiti u tom smjeru. Naime, pokazalo se da je povećana produkcija NO jedan je od glavnih faktora u smanjenju splanhične rezistencije. Utvrđeno je da povišena koncentracija NO inhibira aktivnost DDAH i dovodi do akumulacije ADMA-e, stoga se smatra da je povišenje razine ADMA-e u cirozi kompenzatorni mehanizam koji dovodi do smanjenja hiperprodukcije NO, kao protuteža ekscesivnoj vasodilataciji (Leiper i sur. 2002).

U zaključku ADMA i NO usko su vezani uz promjene vezane za vaskularni endotel, te su njihove promjene pokazatelji vaskularne disfunkcije.

Dosadašnje studije pokazuju da je jetra važan organ u metabolizmu ADMA-e. ADMA je endogeni inhibitor NOS-a te promjene u jetri mogu utjecati na razinu ADMA-e i posljedičnu sintezu NO. Međutim još uvijek nedovoljno je razjašnjena njihova uloga i mehanizmi vezani uz vaskularnu disfunkciju u cirozi. Uznapredovalo oštećenje u cirozi jetre dovodi do akumulacije ADMA, narušavanjem njezinog normalog metabolizma. Povišene razine ADMA-a mogu doprinjeti povećanoj vaskularnoj rezistenciji u jetri i progresiji jetrene bolesti putem svoji poznatih vaskularnih učinaka. Stoga regulacija metabolizma ADMA-e može predstavljati potencijalu terapijsku

opciju liječenja vaskularne disfunkcije u cirozi, što otvara put mnogim budućim studijama.

9.ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici doc.dr.sc. Anni Mrzljak, dr.med., na predloženoj temi, strpljenju i velikoj pomoći tijekom izrade diplomskog rada. Najviše zahvaljujem na svim dobivenim stručnim i poučnim savjetima prilikom pisanja istog.

Zahvaljujem također i Mari Dragičeviću, dr.med., na nesebičnoj pomoći oko prikupljanja podataka i korisnim savjetima pri izradi ovog rada.

10.Literatura

Apostoli GL, Solomon A, Smallwood MJ, Winyard PG, Emerson M. Role of inorganic nitrate and nitrite in driving nitric oxide-cGMP-mediated inhibition of platelet aggregation in vitro and in vivo. *J Thromb Haemost.* 2014, doi: 10.1111/jth.12711

Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2002; 51: 843-846

Bajaj JS, Ahluwalia V, Wade JB, Sanyal AJ, White MB, Noble NA, Monteith P, Fuchs M, Sterling RK, Luketic V, Bouneva I, Stravitz RT, Puri P, Kraft KA, Gilles H, Heuman DM. Asymmetric dimethylarginine is strongly associated with cognitive dysfunction and brain MR spectroscopic abnormalities in cirrhosis. *J Hepatol.* 2013 Jan;58(1):38-44.

Bhathal PS, Grossman HJ. Reduction of the increased portal vascular resistance of the isolated perfused cirrhotic rat liver by vasodilators. *J Hepatol* 1985; 1: 325-327

Blendis L, Wong F. The hyperdynamic circulation in cirrhosis: an overview. *Pharmacol Ther* 2001; 89: 221-231

Bolognesi M, Di Pascoli M, Verardo A, Gatta A. Splanchnic vasodilation and hyperdynamic circulatory syndrome in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014

Bosch J, Pizcueta P, Feu F, Fernández M, García-Pagán JC. Pathophysiology of portal hypertension. *Gastroenterol Clin North Am* 1992; 21: 1-14

Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free Radic Res.* 1999;31(6):577-96.

Edwards E, Harper A. Application of a continuous disease severity score to the OPTN liver waiting list. *Clin Transpl.* 2001;:19-24

Ferrigno A, Di Pasqua LG, Berardo C, Richelm Pi, Vairetti M. Liver plays a central role in asymmetric dimethylarginine-mediated organ injury. *World J Gastroenterol* 2015; 21(17): 5131-5137

Garcia-Tsao G. Portal hypertension. *Curr Opin Gastroenterol* 2003; 19: 250-258

Ginès P, Guevara M, Arroyo V, Rodés J. Hepatorenal syndrome. *Lancet* 2003; 362: 1819-1827

Gupta TK, Toruner M, Chung MK, Groszmann RJ. Endothelial dysfunction and decreased production of nitric oxide in the intrahepatic microcirculation of cirrhotic rats. *Hepatology* 1998; 28: 926-931

La Villa G, Barletta G, Pantaleo P, Del Bene R, Vizzutti F, Vecchiarino S, Masini E, Perfetto F, Tarquini R, Gentilini P, Laffi G. Hemodynamic, renal, and endocrine effects of acute inhibition of nitric oxide synthase in compensated cirrhosis. *Hepatology* 2001;34: 19-27

Laleman W, Omasta A, Van de Casteele M, Zeegers M, Vander Elst I, Van Landeghem L, Severi T, van Pelt J, Roskams T, Fevery J, Nevens F. A role for asymmetric dimethylarginine in the pathophysiology of portal hypertension in rats with biliary cirrhosis. *Hepatology* 2005; 42: 1382-1390

Langer DA, Shah VH. A gas, an amino acid, and an imposter: the story of nitric oxide, L-arginine, and ADMA in portal hypertension. *Hepatology* 2005; 42: 1255-1257

Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13527-13532

Lluch P, Mauricio MD, Vila JM, Segarra G, Medina P, Del Olmo JA, Rodrigo JM, Serra MA. Accumulation of symmetric dimethylarginine in hepatorenal syndrome. *Exp Biol Med (Maywood)* 2006; 231: 70-75

Lluch P, Torondel B, Medina P, Segarra G, Del Olmo JA, Serra MA, Rodrigo JM. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *J Hepatol* 2004; **41**: 55-59

Lorna F. The DDAH/ADMA pathway is a critical regulator of NO signalling in vascular homeostasis. *Cell Adh Migr.* 2008; 2(3): 149-150.

Lu TM, Ding YA, Lin SJ, Lee WS, Tai HC. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2003; 24:1912-1919

Martín-Sanz P, Olmedilla L, Dulin E, Casado M, Callejas NA, Pérez-Peña J, Garutti I, Sanz J, Calleja J, Barrigón S, Boscá L. Presence of methylated arginine derivatives in orthotopic human liver transplantation: relevance for liver function. *Liver Transpl* 2003; 9: 40-48

Matei V, Rodríguez-Vilarrupla A, Deulofeu R, Colomer D, Fernández M, Bosch J, Garcia-Pagán JC. The eNOS cofactor tetrahydrobiopterin improves endothelial dysfunction in livers of rats with CCl₄ cirrhosis. *Hepatology* 2006; 44: 44-52

Melki V, Douhan Håkansson L, Borowiec JW. Effect of simulated extracorporeal circulation and glyceryl-tri-nitrate on leukocyte activation. *Scand Cardiovasc J.* 2014;48(1):59-64.

Mookerjee RP, Malaki M, Davies NA, Hodges SJ, Dalton RN, Turner C, Sen S, Williams R, Leiper J, Vallance P, Jalan R. Increasing dimethylarginine levels are associated with adverse clinical outcome in severe alcoholic hepatitis. *Hepatology* 2007; 45: 62-71

Mookerjee RP, Mehta G, Balasubramanian V, Mohamed Fel Z, Davies N, Sharma V, Iwakiri Y, Jalan R. Hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase1 is reduced in cirrhosis and is a target for therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2015; 62: 325-331

Nijveldt RJ, Teerlink T, Siroen MP, van Lambalgen AA, Rauwerda JA, van Leeuwen PA. The liver is an important organ in the metabolism of asymmetrical dimethylarginine (ADMA). *Clin Nutr* 2003; 22: 17-22 **A**

Nijveldt RJ, Teerlink T, van Leeuwen PA. The asymmetrical dimethylarginine (ADMA)-multiple organ failure hypothesis. *Clin Nutr* 2003;22: 99-104 **B**

Procter NE, Chong CR, Sverdllov AL, Chan WP, Chirkov YY, Horowitz JD. Aging of platelet nitric oxide signaling: pathogenesis, clinical implications, and therapeutics. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40(6):660-8.

Púzserová A, Kopincová J, Bernátová I. Endothelial (dys)function in the experimental model of primary hypertension. *Cesk Fysiol.* 2010;59(1):4-14.

Rockey DC, Chung JJ. Reduced nitric oxide production by endothelial cells in cirrhotic rat liver: endothelial dysfunction in portal hypertension. *Gastroenterology* 1998; 114: 344-351

Sarela AI, Mihaimed FM, Batten JJ, Davidson BR, Mathie RT. Hepatic and splanchnic nitric oxide activity in patients with cirrhosis. *Gut* 1999; 44: 749-753

Segarra G, Medina P, Vila JM, Chuan P, Domenech C, Torondel B, Lluch A. Inhibition of nitric oxide activity by arginine analogs in human renal arteries. *Am J Hypertens* 2001; 14: 1142-1148

Serna E, Mauricio MD, Lluch P, Segarra G, Cortina B, Lluch S, Medina P. Basal release of nitric oxide in the mesenteric artery in portal hypertension and cirrhosis: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 880-886

Shah V, Haddad FG, Garcia-Cardena G, Frangos JA, Mennone A, Groszmann RJ, Sessa WC. Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *J Clin Invest* 1997; 100: 2923-2930

Sieber CC, Groszmann RJ. Nitric oxide mediates hyporeactivity to vasopressors in mesenteric vessels of portal hypertensive rats. *Gastroenterology* 1992; 103: 235-239

Sogni P, Moreau R, Gadano A, Lebrec D. The role of nitric oxide in the hyperdynamic circulatory syndrome associated with portal hypertension. *J Hepatol* 1995; 23: 218-224

Tain YL, Hsieh CS, Chen CC, Sheen JM, Lee CT, Huang LT. Melatonin prevents increased asymmetric dimethylarginine in young rats with bile duct ligation. *J Pineal Res* 2010; 48: 212-221

Tsikas D, Rode I, Becker T, Nashan B, Klempnauer J, Frolich JC. Elevated plasma and urine levels of ADMA and 15(S)-8-iso-PGF_{2a} in end-stage liver disease. *Hepatology* 2003;38:1063–1064.

Vairappan B Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. *World J Hepatol* 2015; 7: 443-459

Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989; 2:997-1000

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-575

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; **20** Suppl 12: S60-S62

Vallance P, Moncada S. Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide? *Lancet* 1991; 337: 776-778

World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects (2013). *JAMA* 310:2191-4.

11. Životopis

Rođen sam 13.05.1992. godine u Našicama, živio sam i pohađao osnovnu školu u Bizovcu. Maturirao sam 2011.g. u osječkoj I. gimnaziji te iste godine upisujem Medicinski fakultet u Zagrebu.

Tijekom studija demonstrator na Katedri za fiziologiju i imunologiju te na Katedri za histologiju i embriologiju.

Od 2016. godine volontiram na Zavodu za gastroenterologiju Kliničke bolnice Merkur gdje sudjelujem u stručnom radu Zavoda i znanstvenom radu na kliničkoj studiji "Uloga markera endotelne disfunkcije: asimetričnog dimetil arginina i dušičnog oksida u procjeni kardiovaskularnog rizika nakon transplantacije jetre" pod mentorstvom doc.dr.sc. Anne Mrzljak.

9/2016. godine koautor sam rada prezentiranog na „9. Hrvatskom kongresu interne medicine“: Dragičević M, Košuta I, **Kruezi E**, Višnjic A, Vučić-Lovrenčić M, Mrzljak A. Asimetrični dimetilarginin: endotelna disfunkcija i uznapredovala parenhimska bolest jetre. 9th Croatian Congress of Internal Medicine, Opatija, Hrvatska. Liječ Vjesn 2016;138:373

10/2016 godine koautor sam rada prezentiranog na Falk Symposium 205: New Treatment Targets in Gut and Liver Disease: Dragičević M, Košuta I, **Kruezi E**, Višnjic A, Mrzljak A, Vučić-Lovrenčić M. Asymmetric dimethylarginine levels and the severity of the liver disease. Proceedings from the Falk Symposium 205: New Treatment Targets in Gut and Liver Disease, Lucerne, Switzerland, October 21-22 2016, P27

Član sam IFMSA (International Federation of Medical Students' Associations).

Aktivno se služim engleskim jezikom.

Svih šest godina sam član nogometne sekcije Medicinskog fakulteta.