

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Mario Šafer

**UTJECAJ KRUTOSTI ARTERIJA I KONCENTRACIJE ENDOKANA NA
NASTANAK VELIKIH KARDIOVASKULARNIH DOGAĐAJA TE NA
PREŽIVLJENJE BOLESNIKA LIJEČENIH KRONIČNOM HEMODIJALIZOM**

Doktorski rad

Osijek, 2025.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Mario Šafer

**UTJECAJ KRUTOSTI ARTERIJA I KONCENTRACIJE ENDOKANA NA
NASTANAK VELIKIH KARDIOVASKULARNIH DOGAĐAJA TE NA
PREŽIVLJENJE BOLESNIKA LIJEČENIH KRONIČNOM HEMODIJALIZOM**

Doktorski rad

Osijek, 2025.

Mentor rada: doc. dr. sc. Dubravka Mihaljević, **dr.med.**

Rad ima 92 stranice.

Velika hvala mojoj mentorici doc. dr. sc. Dubravki Mihaljević. Hvala joj što mi je svaki korak ovog puta olakšala, pomogla, poticala me i bila dostupna u svakom trenutku pri izradi ove disertacije. Bila je mentorica u punom smislu te riječi, ne samo na profesionalnoj, već i ljudskoj razini.

*Hvala svim kolegama i prijateljima na podršci koja je bila stalna i neograničena. Posebno bih se zahvalio Marku Piriću i Eduardu Oštarijašu. Prvi je zaslužan što se pravno izborio da svi studenti imaju jednaka prava i vrijeme za doktoriranje te što mi je svojim zalaganjem omogućio šansu da svoj put na **doktorskom** studiju privedem uspješno kraju. Drugi je zaslužan što me bodrio i tjerao naprijed u trenucima kad sam mislio odustati i najzaslužniji je što smo uspješno objavili rad te što je uvijek bio dostupan za sve savjete oko dovršavanja disertacije.*

Hvala mojoj obitelji, na velikoj podršci i poticaju pri ostvarivanju ovog cilja.

I na kraju, velika hvala mojoj supruzi Ivani, koja mi je uvijek bila najveća podrška i koja me gurala kad sam htio odustati od svega. Također, imala je najviše razumijevanja za sve one silne sate koje sam provodio radeći ili pišući ovu disertaciju.

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1.	Kronična bubrežna bolest.....	1
1.2.	Endotel i endotelna disfunkcija	2
1.3.	Endokan struktura, ekspresija, regulacija i funkcija.....	4
1.3.1.	Endokan i upala.....	7
1.3.2.	Endokan i endotelna disfunkcija.....	8
1.3.3.	Endokan – proliferacija stanica, neoangiogeneza te tumorogeneza.....	8
1.3.4.	Endokan i bubrežne bolesti	9
1.3.5.	Endokan i arterijska hipertenzija	14
1.3.6.	Endokan, ateroskleroza i koronarna bolest.....	15
1.3.7.	Utjecaj određenih lijekova na endokan	16
1.4.	Brzina pulsno vala (PWV) – mjera krutosti arterija	18
1.4.1.	PWV u bolesnika koji nemaju KBB.....	19
1.4.2.	PWV u bolesnika s KBB-om	20
1.4.3.	PWV u bolesnika u ZSKBB-u.....	21
1.4.4.	PWV u bolesnika s bubrežnim presatkom	23
2.	HIPOTEZA.....	24
3.	CILJ	25
4.	ISPITANICI I METODE	26
4.1.	Ustroj studije.....	26
4.2.	Ispitanici	26
4.3.	Metode.....	27
4.3.1.	Demografski podatci.....	27
4.3.2.	Antropometrijska mjerenja	27
4.3.3.	Biokemijske analize	28

4.3.4.	Procjena perifernih i centralnih hemodinamskih parametara	30
4.3.5.	Ishodi.....	31
4.4.	Statističke metode.....	32
5.	REZULTATI.....	33
5.1.	Endokan	34
5.1.1.	Demografske, kliničke i biokemijske karakteristike.....	34
5.1.2.	Parametri periferne i centralne hemodinamike	39
5.1.3.	Preživljenje i ishodi.....	42
5.1.4.	Multivarijatne analize i regresijski modeli.....	43
5.2.	Brzina pulsnog vala	46
5.2.1.	Demografske, kliničke i biokemijske karakteristike.....	46
5.2.2.	Parametri periferne i centralne hemodinamike	50
5.2.3.	Ishodi i preživljenje.....	51
5.2.4.	Multivarijabilne analize i regresijski modeli.....	52
6.	RASPRAVA.....	56
7.	ZAKLJUČCI	65
8.	SAŽETAK.....	66
9.	SUMMARY	67
10.	LITERATURA.....	69
11.	ŽIVOTOPIS	89

POPIS KRATICA

ABMR	akutno antitijelima posredovano odbacivanje (eng. antibody-mediated rejection)
ADMA	asimetrični dimetilarginin (eng. asymmetric dimethylarginine)
ADPKD	autosomalno dominantna policistična bolest bubrega (eng. autosomal dominant polycystic kidney disease)
AH	arterijska hipertenzija (eng. arterial hypertension)
AIDS syndrome)	sindrom stečene imunodeficijencije (eng. acquired immunodeficiency syndrome)
AIx	augmentacijski indeks (eng. augmentation index)
AKS	akutni koronarni sindrom (eng. acute coronary syndrome)
AKT	proteinska kinaza B (eng. protein kinase B)
AOB	akutno oštećenje bubrega (eng. acute kidney injury)
APACHE II	procjena akutne fiziologije i kroničnog zdravstvenog stanja (eng. acute physiology and chronic health evaluation II)
ARDS syndrome)	akutni respiratorni distress sindrom (eng. acute respiratory distress syndrome)
AVF	arteriovenska fistula
BMI	indeks tjelesne mase (eng. body mass index)
CD11a/LFA-1	ligand za ICAM-1 na leukocitima (eng. CD11a / lymphocyte function-associated antigen 1)
cf-PWV wave velocity)	karotidno-femoralna brzina pulsog vala (eng. carotid-femoral pulse wave velocity)
CIMT	debljina kompleksa intima–media karotidne arterije (eng. carotid intima-media thickness)
CKD-MBD	kronična bolest bubrega – poremećaj mineralno-koštanog metabolizma (eng. chronic kidney disease – mineral and bone disorder)
CRP	C reaktivni protein (eng. C-reactive protein)
Cr-PWV	karotidno–radijalni PWV (eng. carotid–radial pulse wave velocity)
CXCL3	kemokin CXC ligand 3 (eng. C-X-C motif chemokine ligand 3)

DALY	godine života izgubljene zbog bolesti (eng. disability-adjusted life years)
DBB	dijabetička bolest bubrega (eng. diabetic kidney disease)
DBP	dijastolički krvni tlak (eng. diastolic blood pressure)
DS	dermatan-sulfat
eGFR rate)	procijenjena glomerularna filtracija (eng. estimated glomerular filtration rate)
EDTA	etilendiamintetraoctena kiselina
EGF	epidermalni čimbenik rasta (eng. epidermal growth factor)
EGFR receptor)	receptor za epidermalni čimbenik rasta (eng. epidermal growth factor receptor)
ELISA	enzimski imunoesej (eng. enzyme-linked immunosorbent assay)
ESM-1	endotel-specifična molekula 1 (eng. endothelial specific molecule-1)
ET-1	endotelin-1
eNOS	endotelna dušik-oksidi sintaza (eng. endothelial nitric oxide synthase)
FA	fibrilacija atrijske
FGF-2	čimbenik rasta fibroblasta -2 (eng. fibroblast growth factor-2)
FMD	protokom posredovana dilatacija (eng. flow mediated dilatation)
GBD	globalno opterećenje bolešću (eng. Global Burden of Disease)
HbA1c	glikirani hemoglobin
HD	hemodijaliza
HDF	hemodijafiltracija
HGF/MET factor / MET receptor)	hepatocitni čimbenik rasta / MET receptor (eng. hepatocyte growth factor / MET receptor)
HGF/SF factor / scatter factor)	hepatocitni čimbenik rasta / faktor raspršivanja (eng. hepatocyte growth factor / scatter factor)
HIF-1α alpha)	faktor induciran hipoksijom -1 alfa (eng. hypoxia inducible factor -1 alpha)
HLA-DR	humani leukocitni antigen DR (eng. human leukocyte antigen - DR)
HR	srčani otkucaji (eng. heart rate)

HRP	peroksidaza hrena (eng. horseradish peroxidase)
hsCRP protein)	visoko osjetljivi C-reaktivni protein (eng. high-sensitivity C-reactive protein)
HUVEC endothelial cells)	endotelne stanice umbilikalne vene (eng. human umbilical vein endothelial cells)
ICAM-1 molecule-1)	međustanična adhezijska molekula-1 (eng. intercellular adhesion molecule-1)
IFN-γ	interferon gama
IgA	imunoglobulin A
IL-1β	interleukin 1 beta
IL-4	interleukin 4
IL-6	interleukin 6
IL-10	interleukin 10
iNOS	inducibilna dušik-oksid sintaza
JAK/STAT3	Janus kinaza / aktivator transkripcije 3 (eng. Janus kinase / signal transducer and activator of transcription 3)
KB	koronarna bolest
KBB	kronična bubrežna bolest
kDa	kilodalton
KDOQI quality initiative)	smjernice za ishode bolesti bubrega (eng. kidney disease outcomes quality initiative)
kHz	kilohertz
KVB	kardiovaskularne bolesti
KVD	kardiovaskularni događaj
LFA-1	antigen povezan s funkcijom limfocita-1 (eng. lymphocyte function-associated antigen-1)
LPS	lipopolisaharid
mA	miliamper
MAP	srednji arterijski tlak (eng. mean arterial pressure)

MCP-1 protein-1)	monocitni kemotaksijski protein-1 (eng. monocyte chemoattractant protein-1)
MHz	megahertz
MMP-9	matriksna metaloproteinaza 9
MMP-13	matriksna metaloproteinaza 13
MPO	mijeloperoksidaza
NF-κB of activated B cells)	nuklearni faktor kappa B (eng. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
NO	dušični oksid (eng. nitric oxide)
OSA sy syndrome)	sindrom opstruktivne apneje u snu (eng. obstructive sleep apnea syndrome)
PAI-1 inhibitor-1)	inhibitor aktivatora plazminogena-1 (eng. plasminogen activator inhibitor-1)
PBMC mononuclear cells)	mononuklearne stanice periferne krvi (eng. peripheral blood mononuclear cells)
PD	peritonejska dijaliza
PE	fikoeritrin (eng. phycoerythrin)
PI3K/Akt	fosfatidilinozitol 3-kinaza / proteinska kinaza B (eng. phosphatidylinositol 3-kinase / protein kinase B)
PKC	proteinska kinaza C
PP	tlak pulsa (eng. pulse pressure)
PTEN homolog)	protein fosfataza i tenzin homolog (eng. phosphatase and tensin homolog)
PWV	brzina pulsnog vala (eng. pulse wave velocity)
RAAS	renin-angiotenzin-aldosteron sustav
RRT	nadomjesna bubrežna terapija (eng. renal replacement therapy)
SBP	sistolički krvni tlak (eng. systolic blood pressure)
sCAM molecules)	topljive stanične adhezijske molekule (eng. soluble cell adhesion molecules)
sCAMs molecules)	topljive stanične adhezijske molekule (eng. soluble cell adhesion molecules)

sICAM-1	topljiva međustanična adhezijska molekula-1 (eng. soluble intercellular adhesion molecule-1)
sVCAM-1	topljiva vaskularna adhezijska molekula-1 (eng. soluble vascular cell adhesion molecule-1)
SCF	usporeni koronarni protok (eng. slow coronary flow)
SOFA assessment)	procjena zatajenja organa u slijedu (eng. sequential organ failure assessment)
ŠB	šećerna bolest
TB	transplantacija bubrega
TCVK	trajni centralni venski kateter
TGF-β1 beta 1)	transformirajući čimbenik rasta beta 1 (eng. transforming growth factor beta 1)
t-PA	tkivni aktivator plazminogena (eng. tissue plasminogen activator)
TNF-α	tumorski nekrotizirajući faktor alfa (eng. tumor necrosis factor alpha)
VCAM-1 1)	vaskularna adhezijska molekula-1 (eng. vascular cell adhesion molecule-1)
VEGF factor)	vaskularni endotelni čimbenik rasta (eng. vascular endothelial growth factor)
VEGF-A factor A)	vaskularni endotelni čimbenik rasta A (eng. vascular endothelial growth factor A)
VEGFR-2	receptor za vaskularni endotelni čimbenik rasta 2 (eng. vascular endothelial growth factor receptor 2)
vWF	von Willebrandov čimbenik (eng. von Willebrand factor)
ZSKBB	završni stadij kronične bubrežne bolesti
μL	mikrolitar

POPIS TABLICA

Tablica 5.1. Demografske, biokemijske i kliničke karakteristike stratificirane prema razinama endokana

Tablica 5.2. Periferni i centralni parametri hemodinamike prema koncentraciji serumskog endokana

Tablica 5.3. Preživljenje i ishodi ovisno o serumskoj koncentraciji endokana

Tablica 5.4. Detaljni rezultati Coxove multivarijatne analize ovisno o endokanu

Tablica 5.5. Demografske, biokemijske i kliničke karakteristike prema vrijednostima PWV-a

Tablica 5.6. Periferni i centralni parametri hemodinamike prema razini PWV-a

Tablica 5.7. Preživljenje i ishodi ovisno o PWV-u

Tablica 5.8. Detaljni rezultati Coxove multivarijatne analize ovisno o PWV-u.

POPIS SLIKA

Slika 5.1. Dijagram toka u procesu odabira sudionika za studiju

Slika 5.2. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o dobi

Slika 5.3. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o CRP-u

Slika 5.4. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o koncentraciji albumina

Slika 5.5. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o PWV-u prije HD

Slika 5.6. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o PWV-u nakon HD

Slika 5.7. Multivarijatna analiza i regresijski modeli ovisno o endokanu

Slika 5.8. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o dobi.

Slika 5.9. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o trajanju liječenja HD-om

Slika 5.10. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o koncentraciji endokana.

Slika 5.11. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o CRP-u.

Slika 5.12. Multivarijatna analiza i regresijski modeli ovisno o PWV-u

Slika 5.13. Kolinearnost između endokana i PWV-a.

1. UVOD

1.1. Kronična bubrežna bolest

Kronična bubrežna bolest (KBB) definira se kao abnormalnost u strukturi ili funkciji bubrega koja je prisutna najmanje tri mjeseca i ima utjecaj na zdravlje, a klasificira se prema uzroku, kategoriji procijenjene glomerularne filtracije (eng. *estimated glomerular filtration rate*, eGFR) (G1–G5) i razini albuminurije (A1–A3) (1). U 2017. godini zabilježeno je, prema podacima iz projekta GBD (eng. *Global Burden of Disease*), ukupno 697,5 milijuna slučajeva KBB-a svih stadija, što predstavlja globalnu prevalenciju od 9,1 % (8,5–9,8 %) (2). Pretpostavka Američkog nefrološkog društva, Europskog nefrološkog društva te Međunarodnog nefrološkog društva jest da je do 2021. godine ukupno više od 850 milijuna bolovalo od nekog oblika bubrežne bolesti, što je otprilike dvostruko više od broja ljudi koji imaju šećernu bolest (ŠB) (422 milijuna), 20 puta više od prevalencije raka u svijetu (42 milijuna) ili ljudi koji imaju AIDS (eng. *acquired immunodeficiency syndrome*) (36,7 milijuna). Godine izgubljenog zdravog života (DALY od eng. *disability-adjusted life years*) ključni su pokazatelj u javnom zdravstvu koji mjeri ukupni teret neke bolesti u populaciji. U 2019. godini, KBB bio je razlog 41,5 milijuna DALY-ja, a ukupno je 1,43 milijuna ljudi umrlo kao posljedica KBB-a. U 2017. godini, trećina DALY-ja u oboljelih od ŠB-a bili su bolesnici s KBB-om, a 1,4 milijuna (95 % UI: 1,2–1,6) umrlih kao posljedica kardiovaskularnih bolesti (KVB) imalo je i KBB. Ukupno 25,3 (22,2–28,9) milijuna DALY-ja kao posljedica KVB-a pripisano je oštećenoj funkciji bubrega. Sveukupno, KBB te posljedično KVB uzrokovali su 2,6 milijuna (95% UI: 2,4–2,8) smrtnih slučajeva u 2017. godini, a KBB je skočio s 19. na 11. mjesto među vodećim uzrocima smrti između 1990. i 2019. godine (3). Trenutno je svijest o bubrežnim bolestima niska, a u svijetu samo 6 % opće populacije i 10 % populacije visokog rizika svjesno je da boluje od KBB-a. Gotova sva stručna društva danas zagovaraju što bolji probir na KBB te što raniju dijagnozu ove tihe i dugo vremena asimptomatske bolesti (4).

Većina bolesnika s KBB-om ne doživi završni stadij KBB-a (ZSKBB), već umre od nekog neželjenog kardiovaskularnog događaja (KVD) u ranijim stadijima KBB-a. Bolesnici u ZSKBB-u koji svoju bubrežnu funkciju nadomještaju hemodijalizom (HD) imaju posebno visok kardiovaskularni morbiditet i mortalitet (5–7). Iako danas postoje kvalitetne

smjernice u liječenju HD-om te su same metode dijalize iznimno napredovale, stopa smrtnosti ostala je neprihvatljivo visoka (8,9). Petogodišnje preživljenje bolesnika na HD-u kreće se između 40 i 50 %. Više od 40 % bolesnika umre zbog kardiovaskularnih uzroka (5,9).

Brojne su poveznice između KBB-a i KVB-a – počevši od utjecaja brojnih tradicionalnih rizičnih čimbenika koji dovode do nastanka kronične upale i disfunkcije endotela (10), pa do tzv. netradicionalnih rizičnih čimbenika, od kojih je jedan od najvažnijih krutost arterija. Brzina pulsnog vala (eng. *pulse wave velocity*, PWV) zadnjih je 30-ak godina postala pouzdani mjerni pokazatelj u evaluaciji krutosti arterija i neovisni prediktor za kardiovaskularnu i ukupnu smrtnost u raznim populacijama bolesnika, među ostalim i u onih sa ZSKBB-om (11–13). Osim same krutosti arterija, drugi važan patofiziološki proces jest nastanak endotelne disfunkcije koja se ne odnosi samo na nesklad između vazodilatatornih i vazokonstriktornih tvari te njihovog utjecaja na tonus krvnih žila, već i na samu aktivaciju endotelних stanica, što posljedično rezultira nastankom vazokonstriktornog, proupalnog i proaterotrombotskog stanja koje doprinosi razvoju KVB-a (14).

1.2. Endotel i endotelna disfunkcija

Endotel oblaže unutarnju stranu cijelog krvožilnog sustava, a sastoji se od jednog sloja endotelnih stanica koje se nalaze na bazalnoj membrani i povezane su staničnim spojevima, a iznad njih je s luminalne strane uklopljen glikokaliks. Funkcionalno predstavlja polupropusnu i selektivnu membranu između krvi i okolnih tkiva koja je svojom cjelinom dinamična i važna u održavanju homeostaze između tkiva i tjelesnih tekućina, u obrani organizma, utjecaju na upalni odgovor, regulaciji tonusa krvnih žila, proliferaciji glatkomišićnih stanica, oblikovanju vaskularnog matriksa, angiogenezi i hemostazi (15–17).

Endotelna disfunkcija najranije je funkcionalno oštećenje kardiovaskularnog sustava, a karakterizirana je neprimjerenom aktivacijom endotela (18). U mnogobrojnim patološkim procesima dolazi do nastanka endotelne disfunkcije, koja se u širem kontekstu ne odnosi samo na nesklad između vazodilatatornih tvari, kao što je dušikov oksid (eng. *nitric oxide*, NO), i vazokonstriktornih tvari (kao što je endotelin, ET-1), te njihova utjecaja

na tonus krvnih žila, već i na samu aktivaciju endotelnih stanica (17,19,20). Patofiziološke posljedice razvoja endotelne disfunkcije su: 1) abnormalna vaskularna reaktivnost i vaskularni spazam (paradoksalna vazokonstrikcija na acetilkolin); 2) povećana propusnost endotela za makromolekule (lipoproteine) s posljedičnom deformacijom endotelnih stanica i patološkim stvaranjem međustaničnih pukotina; 3) povećana ekspresija topljivih staničnih adhezijskih molekula (eng. *soluble cell adhesion molecules*, sCAMs); 4) regrutiranje i nakupljanje monocita odnosno makrofaga u intimi krvnih žila; 5) smanjena regeneracija endotelnih stanica i povećana proliferacija i migracija glatkih mišićnih stanica; i 6) poremećaj hemostatske ravnoteže karakteriziran ekspresijom prokoagulantnih molekula, stvaranjem trombina, agregacijom i adhezijom trombocita te zadržavanjem fibrina (21,22). Čitav taj složeni proces posljedično rezultira nastankom vazokonstriktornog, proupalnog i proaterotrombotskog stanja koji doprinosi razvoju KVB-a (14,17). Zadnjih nekoliko desetljeća pokušava se pronaći idealan pristup mjerenju i procjeni endotelne funkcije, u čemu se koriste brojne biokemijsko-metaboličke metode, funkcionalno-vaskularne metode (mjerenje protoka ili arteriografska mjerenja vaskularne funkcije) te metode za procjenu strukture endotela (23,24). Najčešće korišteni biokemijsko-metabolički biljezi endotelne funkcije su: NO i njegovi metaboliti, topljive međustanične i vaskularne adhezijske molekule, biljezi koagulabilnosti, biljezi oksidativnog stresa, kemokini, mikročestice, endotelne progenitorne stanice, citokini, asimetrični dimetilarginin (ADMA), visokoosjetljiv C-reaktivni protein (eng. *high sensitive CRP*, hsCRP), mijeloperoksidaza (MPO), itd. (21,22,25). Naprimjer, ekspresija adhezijskih molekula, kao što su međustanična adhezijska molekula-1 (eng. *intercellular adhesion molecule-1*, ICAM-1), vaskularna adhezijska molekula-1 (eng. *vascular adhesion molecule-1*, VCAM-1) i E-selektin, može biti izraženija već u ranom stadiju endotelne disfunkcije, dok se promjene u sintezi posrednika, kao što su tkivni aktivator plazminogena (eng. *tissue plasminogen activator*, t-PA), inhibitor aktivatora plazminogena-1 (eng. *plasminogen activator inhibitor-1*, PAI-1), von Willebrandov čimbenik (eng. *von Willebrand factor*, vWF), fibrinogen, monocitni kemotaksijski protein-1 (eng. *monocyte chemoattractant protein-1*, MCP-1) i čimbenik rasta endotela (eng. *vascular endothelial growth factor*, VEGF), očekuju u kasnijim fazama endotelne disfunkcije i aterotrombotskog procesa (26,27).

Danas ne postoji pojedinačna idealna metoda u mjerenju endotelne disfunkcije. Ipak, zlatni standard u njezinu određivanju jest invazivno mjerenje promjene protoka krvi kroz

koronarne krvne žile mjerenjem njihova promjera i odgovora na primjenu vazoaktivnih tvari kao što je acetilkolin. Glavni nedostaci ove tehnike jesu njezina invazivnost s potencijalnim teškim komplikacijama i visoka cijena. Neinvazivna alternativna tehnika koja se smatra zlatnim standardom jest protokom posredovana dilatacija (eng. *flow-mediated dilatation*, FMD) brahijalnih arterija, no i ona je tehnički vrlo zahtjevna te iziskuje educirano osoblje i standardizaciju (28). Od ostalih češće korištenih metoda treba spomenuti vensku okluzivnu pletizmografiju podlaktice, mjerenje debljine kompleksa intima-medija karotidne arterije (eng. *carotid intima-media thickness*, CIMT) i procjenu PWV-a, a za procjenu mikrovaskularne endotelne funkcije najčešće se koristi metoda mjerenja protoka laser-dopler tehnikom mikrocirkulacije kože u odgovoru na različite podražaje (vaskularnu okluziju, iontoforezu acetilkolina, lokalno zagrijavanje i dr.) (21,22,25). Zbog cjelokupne gore opisane kompleksne metodologije, danas postoji povećana potreba za razvojem novih biomarkera čijom bi se jednostavnom biokemijskom analizom mogla ispitati funkcija endotela. Upravo se tijekom patoloških procesa otpuštaju brojne molekule iz endotelnih stanica u cirkulaciju, koje mogu biti odraz endotelne disfunkcije te poslužiti kao markeri u procjeni težine bolesti (15–17). Zarazne bolesti, sepsa, anafilaksija, sindrom akutnog respiratornog distresa (eng. *acute respiratory distress syndrome*, ARDS) te kardiovaskularne, metaboličke i bubrežne bolesti stanja su u kojima za njihov nastanak i razvoj važnu ulogu ima endotelna disfunkcija (29,30). Jedan od novijih biomarkera koji bi mogao pronaći svoje mjesto u stratificiranju i određivanju kardiovaskularnog rizika, endotelne disfunkcije i kronične upale jest endokan.

1.3. Endokan struktura, ekspresija, regulacija i funkcija

Godine 1996. prvi put je izoliran i kloniran iz ljudskih endotelnih stanica te je prvotno nazvan endotel-specifičnom molekulom-1 (eng. *endothelial specific molecule- 1*, ESM-1) (31). Godine 2001. ipak je preimenovan u endokan zbog svojih proteoglikanskih karakteristika (32). Kod ljudi je kodiran jednim genom, *ESM-1*, koji se nalazi na dugom kraku 5. kromosoma na poziciji q11.2, a sastoji se od tri egzona koji su odvojeni s dvama intronima. Egzon 1 i dio egzona 2 kodiraju N-terminalnu cisteinom bogatu regiju od 110 aminokiselina, egzon 2 kodira fenilalaninom bogatu funkcionalnu regiju, a egzon 3 kodira C-terminalnu regiju koja se sastoji od 33 aminokiseline u kojoj se peptidoglikansko vezno mjesto nalazi na poziciji serina 137. Konačna funkcionalna struktura endokana sastoji se

od polipeptidnog lanca od 165 aminokiselina (20 kilodaltona, kDa) te dermatan-sulfatnog (DS) lanca koji je izgrađen od 32 disaharidna ostatka (30 kDa) koji je kovalentno vezan na proteinsku jezgru putem serina na 137. mjestu. Prema strukturnim i funkcionalnim karakteristikama, polipeptidni lanac podijeljen je u nekoliko regija. Prvih 19 ostataka tvori funkcionalnu NH₂-terminalnu hidrofobnu sekvencu za izvanstaničnu sekreciju koja nestaje nakon stvaranja konačne strukture endokana (31). Regija između 1. i 110. aminokiseline bogata je cisteinom i sadržava 18 cisteinskih ostataka. Između 1. i 46. aminokiseline nalazi se regija povezana s izvanstaničnom komponentom receptora za epidermalni čimbenik rasta (eng. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) koja sudjeluje u tumorogenezi (33). Ostatak od ukupno 55 aminokiselina dijeli se u tri funkcijske regije: regija slična EGF-u, fenilalaninom bogata regija te C-terminalna regija (34). Uloga EGF-u slične regije nije još točno razjašnjena, dok je fenilalaninom bogata regija važna u poticanju stanične proliferacije. Proteinska jezgra kovalentno je povezana s glikozaminoglikanskim polisaharidnim lancem na mjestu serina 137 (31). Taj polisaharid sadrži N-acetil-galaktozamin i uroničnu kiselinu koja se sastoji od iduronske i glukuronske kiseline u omjeru 70 : 30. Iduronska kiselina važna je jer endokanu omogućuje sudjelovanje u brojnim regulatornim procesima (35). Za razliku od većine hondroitinskih/DS proteoglikana koji su vezani za izvanstanični matriks ili staničnu membranu, endokan je slobodan, topljiv i secernirajuć proteoglikan. Većina proteoglikana velike su molekule s nekoliko glikozaminoglikanskih lanaca; za razliku od njih, endokan je relativno male veličine te ima samo jedan DS lanac koji sadrži visok udio nesulfatiranih i disulfatiranih disaharida. Osim toga, ne posjeduje visoko homologna, leucinom bogata ponavljanja unutar strukture koja se inače nalaze u brojnim proteoglikanima lokaliziranim na staničnim površinama ili u izvanstaničnom matriksu (32,36).

Endokan se nalazi u zdravim ljudskim tkivima, predominantno u plućima i bubrezima. Prisutan je i u koži, probavnom sustavu, epididimisu, štitnoj žlijezdi, limfnim čvorovima, jetri i mozgu. Većinom se nalazi u tkivima koja su pod stalnom aktivnom proliferacijom ili regeneracijom, a odsutan je u tkivu dojki, velikim krvnim žilama i slezeni (37,38). Iako ga primarno proizvode endotelne stanice plućnih i bubrežnih krvnih žila (39), endokan se nalazi u povišenoj koncentraciji i u upalnim stanjima (31) te u nekim tumorima, kao što su glioblastomi, adenomi hipofize, bubrežni i plućni karcinomi, gdje njegova koncentracija pozitivno korelira s težinom bolesti (40–43). Osim u endotelu glomerularnih kapilara, u ljudskom se bubregu još nalazi i u epitelnim stanicama proksimalnih i distalnih tubula

(37,39). Prisutan je i u cirkulaciji te u urinu, kako u zdravih pojedinaca, tako i u patološkim stanjima (39,44). Endokan se kontinuirano stvara u fiziološkim uvjetima, a njegove su vrijednosti neovisne o spolu (40,44–47).

Na ekspresiju gena za endokan utječe nekoliko čimbenika rasta, kao što su VEGF-A, VEGF-C, hepatocitni čimbenik rasta / MET-receptor (eng. *hepatocyte growth factor / MET receptor*, HGF/MET), čimbenik rasta fibroblasta 2 (eng. *fibroblast growth factor-2*, FGF-2) i EGFR preko signalnih putova koji uključuju put proteinske kinaze C / nuklearnog faktora kapa-B (eng. *protein kinase C / nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, PKC/NF- κ B), fosfatidilinozitol-3-kinaze/proteinske kinaze B (Akt) (eng. *phosphatidylinositol 3-kinase / protein kinase B*, PI3K/Akt) i janus-kinaze / prijenosnika i aktivatora transkripcije 3 (eng. *Janus kinase / signal transducer and activator of transcription 3*, JAK/STAT3). Interakcijom pojačavaju aktivaciju putova koji dovode do angiogeneze i rasta tumora (48). Na razini endotelnih stanica ljudske umbilikalne vene (eng. *human umbilical vein endothelial cells*, HUVEC) dokazano je da njegovo stvaranje potiču nekrotizirajući faktor tumora alfa (eng. *tumor necrosis factor alfa*, TNF- α), interleukin-1 beta (IL-1 β) te bakterijski lipopolisaharid (LPS) aktivirajući upalne putove koji uključuju NF- κ B, dok inhibitorno djelovanje potiče interferon gama (IFN- γ) (39). Utjecaj na gensku ekspresiju za endokan imaju i epigenetski uzroci, kao što je demetilacija promotora, ali i drugi čimbenici, kao što su faktor induciran hipoksijom 1-alfa (eng. *hypoxia inducible factor-1 alfa*, HIF-1 α), IFN- γ i interleukin 4 (IL-4) (49). Naprimjer, u uvjetima hipoksije, HIF-1 α potiče ekspresiju endokana promovirajući adheziju endotelnih stanica i monocita. Uz ranije spomenuto inhibitorno djelovanje IFN- γ , na stvaranje endokana slično djeluje i IL-4 (50). Katabolizam endokana nije u cijelosti razjašnjen. Poluvrijeme života endokana jest oko jednog sata (51). U *in vitro* pokusima razgrađuje se neutrofilnim proteazama, a posebno katepsinom G, neutrofilnom proteinazom te proteinazom 3. Katepsin G izlučen iz aktiviranih neutrofila specifično cijepa endokan na metabolit veličine 14 kDa koji se zove p14 (47). p14 se potom relativno lako uklanja glomerulima. Studije su pokazale da koncentracija metabolita p14 pozitivno korelira sa stupnjem KBB-a, a negativno s eGFR-om (52).

1.3.1. Endokan i upala

Brojni dokazi upućuju na to da je endokan jedan od glavnih čimbenika u upalnim, proliferacijskim i neovaskularizacijskim procesima. Budući da se luči putem endotela te se pojačano aktivira djelovanjem nekolicine proupalnih citokina (poput TNF- α i IL-1 β), jasno je da ima ulogu u aktivaciji endotela i regulaciji interakcije između cirkulirajućih leukocita i same stijenke krvnih žila (31). Istraživanja na ljudskim staničnim linijama i životinjskim modelima pokazala su da ti regulatorni učinci ovise o vrsti leukocita, pri čemu su mogući i proupalni i protuupalni učinci (53). Endokan potiče stvaranje i otpuštanje E-selektina te ICAM-a 1 i VCAM-a 1 iz aktiviranih endotelних stanica, olakšavajući adheziju cirkulirajućih leukocita na sam endotel (54), a upravo ta interakcija može biti ključan početni događaj u angiogenezi, aterosklerozi i upali (55). Također, endokan može utjecati na razinu molekula sCAMs, koje mogu poslužiti kao biomarkeri aktivacije endotela djelujući na njihovu ekspresiju (56); s druge strane, može imati i protuupalne učinke koji su posredovani njegovim vezanjem za antigen povezan s funkcijom limfocita 1 (eng. *lymphocyte function-associated antigen 1*, LFA-1). LFA-1 je integrin koji se veže za ICAM-1 te sudjeluje u regulaciji migracije leukocita iz krvi u tkiva i njihovom usmjeravanju na mjesto infekcije. Vežući se za LFA-1, endokan inhibira interakciju između molekula ICAM-1 i LFA-1, čime sprječava migraciju cirkulirajućih limfocita na mjesto upale, kao i adheziju ovisnu o LFA-1 te aktivaciju leukocita (39). Kako se i endokan i ICAM-1 stvaraju i u fiziološkim uvjetima, moguće je da endokan regulira spontanu adheziju leukocita na endotel, kao i nasumičnu migraciju leukocita u tkiva (31). U bolesnika s KBB-om te pratećim KVB-om, povišena koncentracija endokana povezana je sa smanjenim postotkom cirkulirajućih limfocita, što se pripisuje njihovoj izraženijoj endotelnoj adherenciji (57). Iako endokan u određenim okolnostima ima protuupalni učinak djelovanjem na inhibiciju migracije leukocita, njegove su razine povišene u upalnim stanjima i mogu biti odraz aktivacije neutrofila, limfocita i endotelnih stanica (58). Deaktivacijom gena *ESM1* (koji kodira endokan) dolazi do inaktivacije signalnog puta NF- κ B, dok se njegovom aktivacijom promoviraju stanična proliferacija i inhibicija apoptoze (59).

1.3.2. Endokan i endotelna disfunkcija

Oštećenje endotelom ovisne vazodilatacije, povećana propusnost endotela te razgradnja glikokaliksa najvažnije su patofiziološke značajke disfunkcije endotela (60). Ključna komponenta površinskog sloja vaskularnog endotela je glikokaliks, izgrađen od proteoglikana i glikoproteina, a prekriva luminalnu površinu endotela te je važan čimbenik u patofiziološkoj interakciji endotela i leukocita koja može rezultirati trombozom, promjenama propusnosti krvnih žila te upalom (61). Oštećenje glikokaliksa dovodi do narušavanja endotelne barijere te povećane propusnosti endotela (62,63), što dalje može uzrokovati proupalni odgovor endotela (64). Istraživanja su potvrdila da je oštećenje glikokaliksa progresivno i može biti pouzdan pokazatelj disfunkcije endotela (65). Endokan, kao biomarker oštećenja glikokaliksa, mogao bi biti koristan u dijagnostici, praćenju i liječenju različitih vaskularnih poremećaja, poput ateroskleroze (66). Stimulirajući endotelne stanice na lučenje proupalnih citokina i povećavajući stvaranje reaktivnih kisikovih produkata, endokan dovodi do povećanog oksidativnog stresa te disfunkcije endotela. Inhibirajući AKT / endotelna dušik-oksida sintaza put (eng. *protein kinase B/ endothelial nitric oxide synthase*, AKT/eNOS) i aktivirajući NF- κ B / inducibilna dušik-oksida sintaza (eng. *inducible nitric oxide synthase*, NF- κ B/iNOS) put, mijenja proizvodnju NO, čime doprinosi narušavanju endotelne barijere te upale (67).

1.3.3. Endokan – proliferacija stanica, neoangiogeneza te tumorogeneza

Endokan potiče proliferaciju stanica, a mogao bi imati ulogu i u cijeljenju rana, razvoju tumora te stvaranju neointime (68). Smanjenje ekspresije gena za endokan značajno smanjuje ekspresiju gena povezanih s angiogenezom u hondrocitima koji su aktivirani IL-1 β , uključujući VEGF-A, matriksnu metaloproteinazu 9 (eng. *matrix metalloproteinase - 9*, MMP-9), matriksnu metaloproteinazu 13 (eng. *matrix metalloproteinase - 13*, MMP-13) i receptor za vaskularni endotelni čimbenik rasta 2 (eng. *vascular endothelial growth factor receptor 2*, VEGFR-2). To je dokaz da, osim u upali, endokan ima važnu regulatornu ulogu i u angiogenezi (69). Natječući se s VEGF-A za isto vezno mjesto na fibronektinu, endokan povećava bioraspodjivost VEGF-A, čime potiče signalni put VEGF-a koji regulira angiogenezu (70). S druge strane, VEGF također može pojačati ekspresiju endokana (36,71). Osim toga, utječe i na angiogene kemokine, poput kemokina CXC ligand 3 (eng. *C-X-C motif chemokine ligand 3*, CXCL3), koji povećava pokretljivost tumorskih stanica te

potiče njihovu invaziju i doprinosi razvoju udaljenih metastaza (72). U kombinaciji s hepatocitnim čimbenikom rasta/faktorom raspršivanja (eng. *hepatocyte growth factor/scatter factor*, HGF/SF) aktivira signalni put HGF/Met, potičući angiogenezu i staničnu proliferaciju (32). Dodatno, endokan može inducirati upalni odgovor u makrofazima, povećavajući ekspresiju iNOS-a i proizvodnju NO-a, što pridonosi progresiji tumora (73). Endokan igra važnu ulogu u proliferaciji tumorskih stanica. Njegova povećana ekspresija često je prisutna u različitim vrstama tumora te je povezana s agresivnijim tumorima i lošijim prognozama (74,75). Potiče rast tumorskih stanica putem glikozilacije i aktivacije Akt-ovisnog NF-kB/ciklin D1 puta, čime omogućuje prijelaz staničnog ciklusa iz G1 u S fazu te potiče daljnju proliferaciju stanica (47,76). Izravno se veže na izvanstaničnu regiju EGFR-a, čime olakšava vezanje EGF-a na njegov receptor, što pojačava tumorogenezu (33). I na kraju, može djelovati i na protein fosfatazu i tenzin homolog (eng. *phosphatase and tensin homolog*, PTEN), inhibitor staničnog ciklusa gdje se pokazalo da se pri smanjenoj ekspresiji endokana, povećava ekspresija PTEN-a, čime se inhibira tumorski rast (77). Osim ovih učinaka na tumorogenezu, pokazalo se da endokan povećava proliferaciju i migraciju vaskularnih glatkih mišićnih stanica u ljudskim koronarnim glatkim mišićnim stanicama, što potencijalno može pridonijeti stvaranju neointime tijekom ateroskleroze (15).

1.3.4. Endokan i bubrežne bolesti

Tradicionalni čimbenici rizika ne mogu u potpunosti objasniti visoku učestalost KVB-a u KBB-u. Stoga se sve više proučavaju čimbenici povezani s disfunkcijom endotela (78). Endokan, poznat po ulozi u regulaciji stanične adhezije i upalnih procesa, pokazuje potencijal kao biomarker u dijagnostici i prognozi različitih bubrežnih bolesti, uključujući akutno oštećenje bubrega (AOB) (79,80), KBB (49,81), HD (82), peritonejsku dijalizu (PD) (83,84), transplantaciju bubrega (TB) (85,86), IgA nefropatiju (44), autosomno dominantnu policističnu bolest bubrega (ADPKD) (87) i dijabetičku bolest bubrega (DBB) (88,89). Predstavlja potencijalni biomarker za prognozu i dijagnozu bubrežnih bolesti koji ima brojne prednosti, ali i značajna ograničenja u primjeni. Prednosti su da je topljiv u ljudskim tjelesnim tekućinama, ima nisku koncentraciju u fiziološkim uvjetima, lako je mjerljiv, neinvazivan je te višenamjenski, povezan s upalom, ozljedom endotela, smanjenjem bubrežne funkcije i/ili pojavom KVD-a u različitim vrstama bubrežnih bolesti. Ograničenja su mu da povišena razina u plazmi ne mora uvijek korelirati s

pogoršanjem bubrežne funkcije, različiti lijekovi mogu utjecati na njegovo mjerenje te su potrebna opsežna, multicentrična klinička ispitivanja kako bi se točnije definirala njegova primjena (57).

Što se tiče AOB-a, Gunay i suradnici uspoređivali su bolesnike s AOB-om i one bez bilo kakvih drugih akutnih i kroničnih bolesti, a da pri tome nisu uzimali nikakvu kroničnu terapiju. Rezultati su pokazali da su koncentracije endokana puno veće u onih s AOB-om od kontrolne skupine, što potvrđuje važnost upale i endotelne disfunkcije u etiopatogenezi AOB-a (79). U studiji na 96 pacijenata s ARDS-om, kojima se u trenutku dijagnoze tijekom boravka u odjelu intenzivne njege nije nadomještala bubrežna funkcija (eng. *renal replacement therapy*, RRT), više razine endokana u plazmi bile su povezane s AOB-om. Pacijentima kojima je bila potrebna RRT, detektirane su više razine endokana i kreatinina te više vrijednosti bodova na APACHE II (eng. *acute physiology and chronic health evaluation*) i SOFA (eng. *sequential organ failure assessment*) skalama. Kombinacija endokana i kreatinina pokazala je bolju prognostičku vrijednost za predviđanje potrebe za RRT-om nego samo kreatinin (90).

Koncentracija upalnih i prokoagulantnih posrednika raste slabljenjem ekstreterne bubrežne funkcije, a disfunkcija endotela postaje izraženija (91). Ovi procesi razvijaju se u ranoj fazi bolesti, dok se još nije razvila simptomatska KVB (92). Oštećenje endotela potaknuto je zadržavanjem uremijskih toksina, pojačavanjem proupalnog stanja i oksidativnog stresa, prisutnošću komorbiditeta, prije svega, arterijske hipertenzije (AH), ŠB, dislipidemije i sekundarnog hiperparatireoidizma, povišenom koncentracijom endogenog inhibitora NO sintaze, povišenom koncentracijom ADMA-a te disregulacijom adipocitokina (78). Osim što je bubrežno oštećenje povezano s povišenom koncentracijom upalnih molekula, kao što su C-reaktivni protein (CRP) i IL-6, povezano je i s povišenom koncentracijom prokoagulantnih faktora, kao što su fibrinogen, faktor VII i VIII te D-dimeri. Takvo upalno i hiperkoagulabilno stanje potiče nastanak ateroskleroze i tromboze te djelomično može objasniti visoku incidenciju neželjenih KVD-a u bolesnika s KBB-om, koji su i dalje vodeći uzrok smrti u populaciji ovih bolesnika. U KBB-u svi ti biomarkeri mogu biti povišeni, što zbog pretjeranog stvaranja, što zbog smanjenog odstranjivanja istih ili kombinacije oba procesa (92).

Endokan i njegova povezanost s KBB-om proučavala se u nekoliko studija koje su pokazale da bolesnici s KBB-om imaju statistički značajno višu koncentraciju endokana nasuprot

zdravim pojedincima u kontrolnim skupinama (93–95), ali i da bi se na osnovi njegove koncentracije mogla predvidjeti i težina bubrežne bolesti (93). Studija Yilmaza i suradnika ispitivala je razine endokana u plazmi kod 251 bolesnika s KBB-om stadija 1–5 koji nisu bili na HD-u. Rezultati su pokazali da su razine endokana bile više kod bolesnika s KBB-om u usporedbi s kontrolnom skupinom, s progresivnim porastom kroz stadije bolesti. Endokan je negativno korelirao s eGFR-om i FMD-om, a pozitivno s markerima upale (pentraksin 3 i hs-CRP) i CIMT-om. Povećane razine endokana bile su povezane s većim rizikom od smrti i nastankom neželjenih KVD-a, neovisno o tradicionalnim čimbenicima rizika (93). Pawlak i suradnici proveli su studiju na 53 bolesnika s KBB-om koji nisu na dijalizi, s popratnim KVB-om i bez popratnih KVB-a, kako bi procijenili razine endokana, sICAM-1, sVCAM-1 i markera upale te njihove međusobne odnose. Rezultati su pokazali da su razine endokana, sICAM-1, sVCAM-1 i hs-CRP-a bile značajno više kod bolesnika s KBB-om, posebno kod onih s KVB-om. Nije pronađena korelacija između endokana i markera bubrežne funkcije, što sugerira da povećane razine endokana proizlaze iz njegovog pojačanog stvaranja, a ne iz smanjene bubrežne eliminacije. Također, uočena je pozitivna korelacija između endokana i sICAM-1 te sVCAM-1 kod bolesnika s KVB-om (94).

Kod bolesnika koji su na kroničnom programu hemodijalize zapaženo je da je njegova razina viša nego u onih s nižim stupnjem KBB-a koji još nisu na HD-u ili sa zdravim pojedincima u kontrolnoj skupini (82). Kim i suradnici istraživali su prediktivnu vrijednost endokana za KVD-e kod bolesnika na HD-u. Podijelili su bolesnike prema razinama endokana i pratili ih prosječno 34,6 mjeseci. Skupina s višim razinama endokana imala je značajno veću učestalost KVD-a (22,7 % u odnosu na 12,9 %), a multivarijatna analiza pokazala je da je endokan neovisan prediktor KVD-a u ovoj populaciji bolesnika (95). McMillan i suradnici proučavali su biomarkere povezane s endotelnom funkcijom, bubrežima i upalom kod 90 bolesnika s KBB-om na HD-u, kako bi istražili njihovu ulogu u razvoju srčanog popuštanja (eng. *heart failure*, HF). Otkrili su da su razine većine biomarkera, uključujući endokan, bile značajno više u bolesnika na HD-u u usporedbi sa zdravim osobama. Međutim, nisu pronašli razliku u razinama endokana između bolesnika s HF-om i bez HF-a (96). Hureau i suradnici istražili su promjene koncentracija endokana tijekom rutinskog HD-a kod 11 pacijenata te su otkrili značajne fluktuacije u njegovoj razini tijekom HD-a. Koncentracija endokana povećala se na početku HD-a, a zatim je

postupno opadala. Pretpostavlja se da bi početno povećanje moglo biti posljedica vaskularnog stresa ili hemokoncentracije tijekom HD-a (97).

Kod bolesnika na PD-u, Oka i suradnici pokazali su je endokan povezan sa smanjenjem ostatne bubrežne funkcije, što rezultira preopterećenjem tekućinom, pogoršanjem AH-a te povećava rizik za KVD-e. U ovoj kohortnoj studiji s 21 ispitanikom, razine endokana u serumu kod PD-a bolesnika bile su više nego kod kontrola te više u podskupini s brzim smanjenjem (smanjenje volumena urina >200 mL/god) nego u podskupini sa sporim smanjenjem (smanjenje volumena urina <200 mL/god) (84). Poon i suradnici proveli su studiju na 193 bolesnika na PD-u kako bi ispitali povezanost između razine endokana u serumu i kliničkih ishoda. Rezultati su pokazali da su bolesnici s višim razinama endokana imali nižu razinu serumskog albumina, viši PWV kao mjeru krutosti arterija te viši CRP. Također, viša razina endokana bila je neovisan prediktor nastanka neželjenih KVD-a, osobito kod bolesnika s lošom kontrolom arterijskog tlaka. Ovi zaključci sugeriraju da bi endokan mogao biti potencijalni biomarker za procjenu rizika od nastanka KVD-a kod bolesnika na PD-u (83).

TB jedna je od najučinkovitijih opcija za liječenje KBB-a. Bolesnici koji prime bubrežni presadak imaju bolje stope preživljenja od onih na HD-u ili PD-u, međutim, progresivno pogoršanje funkcije presatka predstavlja veliki klinički problem. Stalno prisutna aloimuna reaktivnost između leukocita primatelja i endotelnih stanica u bubrežnim presatcima dovodi do upale te endotelne disfunkcije, što rezultira gubitkom funkcije presatka. Različite studije usmjerene su na određivanje markera koji bi omogućili ranu dijagnozu pogoršanja funkcije presatka i nastanka akutnog i kroničnog odbacivanja, a u nekoliko njih je istraživana i endokan (57). U studiji Su i suradnika, istraživala se povezanost razina endokana u serumu s kroničnom ozljedom bubrežnog presatka kod 97 transplantiranih. Otkrili su da su više razine endokana povezane s višim stadijima KBB-a. Tijekom tromjesečnog praćenja, pacijenti s višim razinama endokana imali su više vrijednosti kreatinina i nižu eGFR. Laboratorijska ispitivanja pokazala su da TNF- α povećava proizvodnju endokana i transformirajućeg čimbenika rasta beta-1 (eng. *transforming growth factor – beta 1*, TGF- β 1) u endotelnim stanicama, dok smanjuje razinu interleukina 10, (IL-10), što ukazuje na kompleksnu ulogu TNF- α u regulaciji upalnog odgovora. Ovi zaključci sugeriraju da bi endokan mogao služiti kao dugoročni biomarker za praćenje kronične ozljede bubrežnog presatka kod transplantiranih pacijenata (86). Studija Li i

suradnika istraživala je promjene u ekspresiji endokana kod 60 primatelja bubrežnih presađaka prije operacije i nakon epizode akutnog odbacivanja. Rezultati su pokazali da su razine *esm-1* mRNA i proteina bile značajno povećane kod pacijenata s akutnim odbacivanjem u usporedbi s onima s normalnom funkcijom presatka ili disfunkcijom iz drugih razloga. Liječenje akutnog odbacivanja smanjilo je ekspresiju *esm-1* mRNA. Glavni izvor *esm-1* bili su oštećeni endotelni dijelovi donorskog bubrega. Ovi nalazi sugeriraju da bi endokan mogao biti osjetljiv i specifičan marker za rano otkrivanje akutnog odbacivanja nakon TB-a, posebno kada se koristi zajedno s mjerenjem HLA-DR+ limfocita u urinu (98). U studiji Malyszko i suradnika u kojoj je sudjelovalo 63 transplantirana bolesnika sa stabilnom funkcijom presatka, razina endokana u serumu bila je u korelaciji s drugim markerima oštećenja endotela (ICAM i VCAM), markerima upale (CRP i IL-6) te markerima funkcije bubrega (kreatinin, eGFR i cistatin C). Rezultati su pokazali da je razina endokana bila značajno viša kod pacijenata s bubrežnim presatkom nego kod zdravih kontrola te je bila povezana s funkcijom, vremenom nakon transplantacije, kao i s disfunkcijom endotela (85). Studija Lee i suradnika ispitala je ulogu endokana kao markera mikrovaskularne upale kod 203 primatelja bubrežnih presađaka s različitim uzrocima disfunkcije presatka. Rezultati su pokazali da su bolesnici s akutnim antitijelima posredovanim odbacivanjem (eng. *antibody-mediated rejection*, ABMR) imali značajno više razine endokana u plazmi i urinu u usporedbi s onima s normalnom funkcijom ili drugim uzrocima disfunkcije presatka. Povišene razine endokana bile su povezane s višim stupnjevima glomerulitisa i peritubularnog kapilaritisa, što je u konačnici rezultiralo i lošijim preživljenjem presatka. Ovi zaključci sugeriraju da mjerenje endokana u plazmi i urinu može poslužiti kao dobra metoda za otkrivanje vaskularne upale i razlikovanje ABMR-a od drugih patoloških zbivanja povezanih s presatkom (99).

Endokan je evaluiran i u mnogim specifičnim stanjima koja bi mogla dovesti do KBB-a. Njegove povišene vrijednosti zabilježene su kod bolesnika s ADPKD-om u usporedbi sa zdravim pojedincima, ali i u onih s ADPKD-om i određenim stupnjem bubrežnog oštećenja, nasuprot onima s ADPKD-om koji imaju urednu bubrežnu funkciju (87). U bolesnika sa ŠB-om zabilježena je viša razina endokana usporedno s kontrolnom skupinom bez ŠB-a, a unutar populacije dijabetičara, njegova koncentracija je značajno viša ako postoji bubrežno oštećenje u vidu albuminurije u odnosu na one koji su normoalbuminurični (88). U bolesnika s IgA nefropatijom utvrđene se povišene vrijednosti i serumskog i urinarnog endokana u usporedbi sa zdravim pojedincima. Iako se njegova razina u tih

bolesnika nije razlikovala po stupnju KBB-a, ipak oni s višim vrijednostima su bili skloniji bržoj progresiji KBB-a (44).

1.3.5. Endokan i arterijska hipertenzija

AH i disfunkcija endotela međusobno su povezane, pri čemu jedno stanje može pogoršati drugo. Ključni medijatori u ovim složenim etiopatofiziološkim krugovima su pojačani oksidativni stres, smanjena NO bioaktivnost te aktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sustava (RAAS). Oni dovode do aktivacije endotelnih stanica koje onda stvaraju proupalne citokine koji dodatno pogoršavaju endotelnu funkciju smanjujući NO i potičući upalu, čime se začarani krug zatvara (14,100,101). Pošto je dokazana etiopatofiziološka poveznica između AH-a s upalom i disfunkcijom endotela te njihov doprinos u oštećenju ciljnih organa, endokan je proučavan u nekoliko studija s hipertenzivnim bolesnicima. Pokazalo se da je koncentracija endokana niska u fiziološkim uvjetima. Međutim, prosječne fiziološke razine endokana izmjerene u različitim studijama varirale su od nekoliko pikograma po mililitru pa do do stotina pikograma po mililitru. Varijabilnost u koncentracijama endokana među različitim studijama može biti uzrokovana razlikama u populaciji, ali i vrsti uzorka (serum ili plazma) te korištenjem različitih metoda kvantifikacije. Plazma je bolja za ponovljivost rezultata zbog lakše obrade, dok serum pokazuje veću osjetljivost za detekciju biomarkera. ELISA (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA), i multiplex bead-based testovi mogu dati različite rezultate zbog specifičnosti antitijela i križnih reakcija, pri čemu su multiplex testovi skloniji nespecifičnom vezanju. Ipak, istraživanja su pokazala značajno višu koncentraciju endokana u hipertenzivnih bolesnika u usporedbi s normotenzivnima, kako u novodijagnosticiranim, tako i u onih koji već uzimaju antihipertenzivnu terapiju (102,103). U bolesnika s AH-om, koncentracija endokana je povezana s CIMT-om, mikroalbuminurijom te izraženijim KVB-om (102,104–106). To oštećenje ciljnih organa može kao uzrok imati aktivaciju i disfunkciju endotela. Oštećeni endotel oslobađa više slobodnog endokana u krvotok. Pod djelovanjem endokana, cirkulirajući limfociti prijanjaju uz stijenku krvnih žila i infiltriraju je, što dovodi do oštećenja struktura krvnih žila i zadebljanja stijenke, što dodatno narušava i endotelno ovisnu i endotelno neovisnu vazodilataciju (58). U dvije studije istraživao je i njegov utjecaj na cirkadijani ritam arterijskog tlaka. Cimen i suradnici pokazali su da je koncentracija endokana i hs-CRP značajno viša u bolesnika kojima ne dolazi do fiziološkog noćnog pada tlaka (non-dipper),

u odnosu na one kojima dolazi (diperi) i normotenzivne kontrole (107). U drugoj studiji, endokan je pozitivno korelirao s koncentracijom noradrenalina i renalaza u grupi bolesnika s AH-om (103). Nasuprot ove dvije studije, Oktar i suradnici nisu našli poveznicu između koncentracije endokana i cirkadijanog ritma arterijskog tlaka među promatranim grupama (106). U AH-u pozitivno korelira s prisutnošću i težinom koronarne bolesti (KB) kao i s hs-CRP-om, CIMT-om te PWV-om (102,104–106).

1.3.6. Endokan, ateroskleroza i koronarna bolest

Upala, oksidativni stres i disfunkcija endotela ključni su čimbenici u razvoju ateroskleroze koja je usko povezana s oštećenjem endotela (108). Jedan od glavnih koraka u stvaranju aterosklerotskog plaka je prijanjanje leukocita na aktivirani endotel i njihova migracija u tkiva. U ovom procesu posreduju adhezijske molekule poput ICAM-1-a i VCAM-a. ICAM-1 ostaje povišen u svim stadijima ateroskleroze, dok je VCAM-1 posebno izražen u nestabilnim plakovima (109). HIF-1 α /VEGF signalni put dovodi do povećanja ekspresije za endokan koji onda povećava koncentraciju ovih adhezijskih molekula posebno u uvjetima hipoksije što dovodi do pojačavanja upalnog odgovora, početnog odlaganja lipida u početno formirani plak te jače izraženog oštećenja endotela (53). Osim proupalnog djelovanja, endokan utječe direktno i na sami razvoj aterosklerotskog plaka stimulirajući proliferaciju i migraciju glatkih mišićnih stanica, što je važan proces u stvaranju neointime tijekom razvoja ateroskleroze (4). Mjerenje CIMT-a ultrazvukom vrlo je osjetljiva metoda za rano otkrivanje aterosklerotskih promjena te je povećani CIMT pouzdan pokazatelj ranog razvoja ateroskleroze i postojeće, moguće do tada, asimptomatske KVB-e. Ranije je spomenuto kako endokan doprinosi razvoju ateroskleroze upalom i oštećenjem endotela te je nekoliko studija potvrdilo da je njegova veća koncentracija povezana s povećanom debljinom CIMT-a, što može ukazivati na povećani kardiovaskularni rizik (102,110). Manifestacija ateroskleroze koja se najviše istraživala u usporedbi s koncentracijama endokana i njegovim utjecajem na ishode u tih bolesnika je KB (68). Bolesnici koji još nemaju razvijenu aterosklerozu, ali imaju poremećeni endotelni vazomotorni odgovor, uključujući abnormalni konstriktivni odgovor na acetilkolin na koronarnim arterijama, imaju povišen rizik razvoja akutnog koronarnog događaja (111). Nekoliko studija istraživalo je endokan u ulozi potencijalnog biomarkera u KB-u. Studije su pokazale da je njegova koncentracija značajno viša i konstantno povišena u KB-u u usporedbi sa zdravim pojedincima u kontroli (112,113), a osim toga značajnije je povišena u bolesnika s KB-om

i komorbiditetima kao što su AH (104,105), ŠB (114) i sindrom opstruktivne apneje (eng. *obstructive sleep apnea syndrome*, OSA) (115), u usporedbi s bolesnicima koji imaju spomenute komorbiditete, a nemaju KB. Više razine endokana prisutne su i u bolesnika s mikrovaskularnom KB, tj. kod kojih na koronarografiji nema opstruktivnih lezija u usporedbi sa zdravim pojedincima u kontroli. Vrijedi istaknuti da se njegova vrijednost nije značajno razlikovala u onih koji su imali mikrovaskularnu bolest od onih s opstruktivnom KB što ide u prilog tome da je u oba klinička entiteta zapravo najvažniji čimbenik disfunkcija endotela (116). Bolesnici kod kojih se dokaže usporeni protok kroz koronarne krvne žile (eng. *slow coronary flow*, SCF) imaju veću šansu za nastanak ishemije miokarda (117). Kako endotelna disfunkcija i upala igraju važnu ulogu u patofiziologiji SCF-a, nekoliko studija proučavalo je korisnost endokana kao biomarkera povezanog sa SCF-om. Pokazano je da su u onih bolesnika sa SCF-om prisutne više razine endokana nasuprot onih pacijenata s urednim koronarnim protokom, tj. da je endokan neovisni pokazatelj postojanja SCF-a (118,119). Sva ta zapažanja i studije govore u prilog tome da endotelna disfunkcija i porast koncentracije endokana nastaju rano u procesu ateroskleroze te da mogu doprinijeti daljnjem razvoju i progresiji aterosklerotske bolesti (120).

1.3.7. Utjecaj određenih lijekova na endokan

U nekoliko studija ispitivao se utjecaj određenih lijekova na koncentraciju endokana. Celik i suradnici istraživali su utjecaj amlodipina i valsartana na koncentraciju endokana u 37 bolesnika kod kojih je novodijagnosticirana arterijska hipertenzija. Otkrili su da se, nakon tri mjeseca antihipertenzivnog liječenja i sniženja tlaka, koncentracija endokana značajno smanjila u obje grupe. Značajnije smanjenje zabilježeno je u skupini s amlodipinom, dok se CRP smanjio s oba gore navedena lijeka, a statistički značajnije u grupi s amlodipinom. Ovi rezultati govore u prilog tome da su valsartan, a pogotovo amlodipin, sposobni smanjiti disfunkciju endotela svojim protuupalnim i pleiotrofnim učincima. Opisano smanjenje koncentracije endokana i CRP-a ne korelira s vrijednostima krvnog tlaka, što ukazuje na sam utjecaj na endotel i upalu, neovisno o sniženju arterijskog tlaka (121). Tadžić i suradnici proučavali su učinak sniženja krvnog tlaka amlodipinom na koncentraciju sCAM-a i vCAM-a te endokana, kao i na koncentraciju određenih liganda na cirkulatorne leukocyte u 24 novodijagnosticirana hipertoničara. Tijekom 8 tjedana opservacije i terapije amlodipinom, serumske koncentracije ICAM-1-a i VCAM-1-a kao i

endokana bile su značajno snižene. S druge strane, ekspresija endokana i ICAM-1 liganda (CD11a/LFA1) na leukocitima se povisila. Pojačana ekspresija ICAM-1-a i endokanovog liganda te snižena serumska koncentracija CAM-a i endokana mogu značiti uspješnu deaktivaciju endotela tijekom antihipertenzivne terapije s ciljem smanjivanja razvoja ateroskleroze (122). Tuncez i suradnici uspoređivali su učinak četverotjedne terapije s atorvastatinom 80 mg ili rosuvastatinom 40 mg na serumski endokan i druge biomarkere povezane s kardiovaskularnim bolestima u 63 bolesnika s akutnim infarktom miokarda; zaključili su da oba statina smanjuju koncentraciju endokana, ali statistički značajno jedino doza rosuvastatina od 80 mg. Ipak, kada bi se uspoređivao apsolutni ili prosječni udio smanjenja koncentracije endokana s oba statina, tada se može zaključiti da nema razlika između njih (123). U nekoliko studija istraživao se i tikagrelor, P2Y₁₂ blokator (124,125). Pretkliničke studije pokazale su pleiotropne protuupalne učinke tikagrelora preko P2Y₁₂ neovisnog puta, koji su djelomično objašnjeni povišenjem koncentracije adenoзина te se smatra da bi tikagrelor mogao imati dodatne korisne efekte na upalu i endotelnu disfunkciju u usporedbi s klopidogetrelom (125). Ispitivajući tu hipotezu, dvije studije proučavale su utjecaj tikagrelora na serumski endokan, upalne markere te kratkoročnu prognozu kod bolesnika s akutnim koronarnim sindromom (AKS) sa ST-elevacijom koji su išli na koronarografiju. Tikagrelor se pokazao učinkovitijim od klopidogetrela u smanjenju upale i poboljšanju funkcije endotela te je u obje studije razina endokana u serumu bila značajno niža u pacijenata koji su primali tikagrelor u usporedbi s onima koji su primali klopidogetrel. Tikagrelor je pokazao bolji učinak i na druge upalne markere poput hs-CRP i IL-6 te sve ovo sugerira da inhibicija P2Y₁₂ receptora pozitivno utječe na vaskularnu funkciju i smanjenje upale, što dodatno podržava korist tikagrelora u terapiji pacijenata s AKS-om (126,127). Endokan je pozitivno povezan s razinama glikiranog hemoglobina (HbA_{1c}) i može se koristiti kao marker za lošu kontrolu glikemije i mikroalbuminuriju (128). Studija na pacijentima sa šećernom bolešću tipa 2 pokazala je da antihiperglikemijska terapija i promjene u načinu života značajno smanjuju razine endokana te dovode do bolje kontrole glikemije i albuminurije (129). Istraživao se i učinak hiperglikemije na koncentraciju endokana u HUVEC-u te na učinak djelovanja metformina. Visoke koncentracije glukoze značajno su smanjile vijabilnost i migraciju HUVEC-a, a svi su ti učinci bili poništeni djelovanjem metformina. Liječenje metforminom u stanjima hiperglikemije dovelo je do povećane ekspresije i lučenja endokana od strane HUVEC-a. Prema tim saznanjima, u uvjetima hiperglikemije metformin može poboljšati angiogeni

učinak endotelnih stanica posredovan endokanom reducirajući razvoj dijabetoloških komplikacija koje utječu na cijeljenje rana, kao što je dijabetičko stopalo (130).

1.4. Brzina pulsno vala (PWV) – mjera krutosti arterija

Pacijenti na HD-u suočavaju se s visokim rizikom od KVB-a, unatoč napretku u liječenju i standardima dijalize (5,6,131). Stope smrtnosti ostaju visoke, a glavni uzrok smrti su srčano-žilne komplikacije. Uz endotelnu disfunkciju, jedan od ključnih čimbenika rizika je i povećana arterijska krutost, koja doprinosi povišenju sistoličkog tlaka i tlaka pulsa, hipertrofiji lijeve klijetke i širenju visokog pulsatilnog tlaka kroz mikrocirkulaciju na ciljne organe (132–134). Patogeneza krutosti arterija u ZSKBB-u poprilično je složena i obuhvaća razne patofiziološke procese koji obuhvaćaju: 1) promjene u ekstracelularnom matriksu koje nastaju zbog povišene koncentracije metaloproteinaza matriksa, 2) nakupljanje završnih produkata glikozilacije koji modificiraju strukturu kolagena te stvaraju reaktivne kisikove radikale te deaktiviraju nastanak NO-a, 3) nastanak endotelne disfunkcije uzrokovane smanjenim klirensom uremijskih toksina, 4) povišenu koncentraciju ET-1, 5) prekomjernu aktivaciju RAAS-a, 6) kroničnu upalu koja rezultira razgradnjom elastina, 7) hiperfosfatemiju, hiperkalcemiju i visok unos kalcija koji rezultiraju kalcifikacijom medije i nastankom arterioskleroze te 8) poremećaj mineralno-koštanog metabolizma (eng. *chronic kidney disease – metabolic bone disease*, CKD MBD) (135). PWV je zadnjih 30-ak godina postao pouzdani mjerni pokazatelj u evaluaciji krutosti arterija, kao i neovisni prediktor za kardiovaskularnu i ukupnu smrtnost u raznim populacijama bolesnika pa tako i u bolesnika u ZSKBB-i (11,132,136). Zlatni standard je tonometrijsko mjerenje karotidno-femoralnog PWV-a (eng. *carotid-femoral PWV*, cf-PWV) (136). Ipak, posljednjih nekoliko godina dostupne su nove neinvazivne i lako ponavljajuće metode za mjerenje PWV-a (12). Jedan od tih novijih uređaja je i Mobil-O-Graph, oscilometrijski uređaj kojim se mjeri PWV putem nadlaktične tlačne manšete i koji omogućava, osim ordinacijskog mjerenja, i mjerenje kroz 24h u kućnim uvjetima. Koristi oscilometrijsku metodu (ARCSolver algoritam) pomoću nadlaktične orukvice (13). Standardna orukvica koja se napuše nešto iznad dijastoličkog tlaka, omogućava bilježenje oblika vala brahijalne arterije. Nakon toga, generalizirana transfer funkcija prosječnog izgleda krivulje vala zabilježene periferno stvara krivulju vala na razini aorte koja se onda modificira ovisno o vrijednostima brahijalnog dijastoličkog tlaka te srednjih tlakova (137).

Uspoređujući Mobil-O-Graph sa zlatnim standardom tonometrijskim SphygmoCorom, Wassertheurer i suradnici pronašli su razliku u aortalnom tlaku od samo 0,1 mmHg, a u augmentacijskom indeksu (eng. *augmentation index*, Alx) samo 1,2 %, dok su vrijednosti PWV-a bile nešto niže (13). U usporedbi s invazivnim mjerenjima intraaortalnim kateterima, postignuta je zadovoljavajuća točnost, a vrijednosti izmjerenih PWV-a oscilometrijskom metodom bile su nešto više (138). Slično je postignuto u usporedbi oscilometrijske metode i metode magnetskom rezonancijom (139). Salvade i suradnici pokazali su da je PWV osjetljiviji u predviđanju vaskularnog starenja od tlaka pulsa koji je zasad predložen kao KDOQI (prema eng. *kidney disease outcomes quality initiative*, KDOQI), parametar za praćenje kardiovaskularnog rizika (140).

U smjernicama Europskog kardiološkog društva iz 2018. godine, prag vrijednosti PWV-a od 10 m/s naveden je kao pokazatelj povećanog kardiovaskularnog rizika te je prikladan za korištenje u svrhu stratifikacije pacijenata s umjerenim rizikom (2b razina dokaza) (141). Ova preporuka temeljena je na povezanosti između visokog PWV-a s povišenom smrtnošću i nastupom neželjenih KVD-a. U metaanalizi 17 studija kojima su se analizirali KVD-i i smrtnost u usporedbi s PWV-om, ukupni relativni rizik za ukupnu smrtnost bio je 1,15 za svako povišenje PWV-a od 1 m/s i 1,42 za svako povišenje za jednu standardnu devijaciju. U ovu metaanalizu uključeni su bolesnici iz opće populacije, kao i oni s najvišim mogućim rizicima, među kojima su i bolesnici u ZSKBB-u (11). Ipak, prognostička vrijednost PWV-a kod bolesnika s HF-om mogla bi biti ograničena, budući da apsolutne vrijednosti PWV-a mogu biti pogrešne zbog smanjene ejekcijske frakcije i krvnog tlaka (142). Točnost mjerenja PWV-a u bolesnika s fibrilacijom atrijske (FA) još je uvijek nejasna i potrebna su daljnja istraživanja (143,144). Osim toga, u mnogim studijama su bolesnici s FA-om i HF-om isključeni iz analiza PWV-a (145–148).

1.4.1. PWV u bolesnika koji nemaju KBB

Ben Shlomo i suradnici su u metaanalizi 16 studija (17 635 bolesnika) ispitivali može li aortalni PWV bolje pretkazati KVD od tradicionalnih kardiovaskularnih rizičnih čimbenika te su zaključili da bi se pomoću PWV-a mogli lakše pronaći pojedinci koji su pod najvećim rizikom i koji bi bili kandidati za agresivniji pristup u liječenju i smanjivanju kardiovaskularnog rizika (149). Brojne studije pokazale su da povišeni PWV ima snažnu povezanost s većom kardiovaskularnom smrtnošću, osobito kada se PWV podijeli u tercile

(150). U praćenju Rotterdam studije na oko 3350 bolesnika, viši PWV značajno je predvidio preživljenje bez KB-a tijekom deset godina. Osim toga, PWV je pokazao prediktivnu vrijednost za cerebrovaskularnu i perifernu arterijsku bolest, uključujući i smrtnost (151) te je koristan i u predviđanju funkcionalnog ishoda nakon akutnog ishemijskog moždanog udara (152). Novija istraživanja ukazuju i na povezanost između višeg PWV-a i razvoja kognitivnih oštećenja, neovisno o tradicionalnim kardiovaskularnim rizičnim čimbenicima (153). Taj se odnos objašnjava mikrovaskularnim oštećenjima mozga zbog povišenog centralnog krvnog tlaka uslijed povećane krutosti aorte (154). U longitudinalnim studijama, viši PWV bio je povezan s lošijim rezultatima na testovima verbalnih i kognitivnih funkcija, subkliničkim oštećenjima mozga, a u nekima je PWV bio neovisni rizični čimbenik za kognitivni pad (155).

1.4.2. PWV u bolesnika s KBB-om

Progresija arterijske krutosti, mjerene PWV-om, u bolesnika s KBB-om odvija se prema obrascima koji se razlikuju od opće populacije, a često je povezana s procesom ubrzanog vaskularnog starenja i progresivnim porastom vaskularnih kalcifikacija. Napredovanjem KBB-a, vaskularne kalcifikacije postaju sve učestalije i izraženije, a procjenjuje se da čak 80–90 % bolesnika u ZSKBB-u na dijalizi (stadij 5D) ima teške oblike kalcifikacija (156,157). Zabrinjavajuće, visoka prevalencija vaskularnih kalcifikacija zabilježena je i kod mlađih bolesnika, uključujući i one mlađe od 30 godina s uznapredovalim KBB-om ili ZSKBB-om. Ova pojava dodatno potvrđuje veliki kardiovaskularni rizik kojem je izložena ova populacija (157). U nekoliko je studija pokazano da KBB dovodi do viših vrijednosti PWV-a u usporedbi s općom populacijom. U skupini od 150 bolesnika različitih stadija KBB-a pokazano je da se PWV povišuje već u ranijim stadijima bolesti te da raste kroz godinu dana u usporedbi s populacijom koja ima urednu bubrežnu funkciju (158). Opservacijska studija u rotterdamskoj skupini bolesnika pokazala je povezanost između PWV-a i pogoršanja bubrežne funkcije, s povišenim relativnim rizikom za nastup KBB-a za 1,08 (95% CI, 1,03-1,14) za svaku povišenu standardnu devijaciju PWV-a (159). U opservacijskim studijama zabilježeno je da kod bolesnika s KBB-om dolazi do povišenja PWV-a za otprilike 1 m/s godišnje (160), što predstavlja brže napredovanje arterijske krutosti u usporedbi s normalnim procesom starenja (161).

1.4.3. PWV u bolesnika u ZSKBB-u

Dugoročni kardiovaskularni ishodi pacijenata na PD-u i konvencionalnom HD-u slični su, ali značajno lošiji u usporedbi s općom populacijom iste dobi i spola (162). Još je uvijek nerazjašnjen utjecaj modaliteta dijalize na krutost arterija mjerene PWV-om. Razlozi tome su mogući premali broj ispitanika u studijama, no ipak je nedvojbeno dokazano da bilo koji od modaliteta definitivno utječu na samu krutost arterija (163,164). U longitudinalnoj studiji koja je analizirala promjene PWV-a kroz 12 mjeseci u bolesnika na PD-u i HD-u, rezultati su pokazali progresiju krutosti arterija koja je bila izraženija u bolesnika na HD-u. Glavna razlika u populacijama bolesnika, osim samog modaliteta, bila je i ostatna bubrežna funkcija, tako što su bolesnici na HD-u većinom bili anurični, za razliku od onih na PD-u, koji su imali određenu ostatnu bubrežnu funkciju (165). Stope mortaliteta između dijaliznih modaliteta na razini registara su slične, što se vjerojatno može objasniti visokom prevalencijom kardiovaskularnih komorbiditeta kod pacijenata s ZSKBB-om, a ne specifičnim utjecajem samog modaliteta (8). U zadnja 3 desetljeća, nekoliko je studija istraživalo povezanost ordinacijskog mjerenja PWV-a sa smrtnošću bolesnika sa ZSKBB-om (133,145,146,148,166–168). Studije Blachera i suradnika (133,145), Panniera i suradnika (148), Shojia i suradnika (167) ili Zoungasa i suradnika (168), potvrdile su da je c-f PWV pretkazatelj smrtnosti u bolesnika na kroničnom HD-u. U studiji Fortiera i suradnika koja je uključila 310 bolesnika na HD-u, neinvazivno mjerenje c-f PWV-a bilo je povezano sa smrtnošću samo u univarijatnoj analizi (166). U nekoliko je studija istraživana važnost ambulatornog mjerenja krutosti arterija. Sarafidis i suradnici istraživali su 170 bolesnika na HD-u te im mjerili 48h ambulatorno PWV i pronašli su jaku povezanost ambulatornog PWV-a s ukupnom smrtnošću te nastankom nepoželjnih KVD-a. Ambulatorni PWV bolji je prediktor ukupne smrtnosti i nastanka KVD-a od ordinacijskog ili ambulatornog mjerenja arterijskog tlaka (147). Studija Matschkal i suradnika sugerira da je 24-satni PWV kod bolesnika na dijalizi snažan i neovisan prediktor ukupne smrtnosti te pruža dodatnu prognostičku vrijednost. Njegova sposobnost predviđanja rizika nadilazi onu mjerenja PWV-a u ordinaciji, budući da u njihovoj studiji ordinacijski PWV nije pokazao prognostičku vrijednost nakon prilagodbe za sve varijable koje bi mogle imati utjecaj na ishod (169).

Hemodijaliza ultrafiltracijom uzrokuje značajne promjene ukupne količine tekućine u organizmu te promjenu arterijskog tlaka (170). Karpetas i suradnici istraživali su

varijacije hemodinamskih parametara između intradijalitičkih i interdijalitičkih perioda tijekom 48h mjerenja Mobil-O-Graphom u grupi bolesnika na HD-u te su zaključili da je usporedno s ostalim parametrima, kao što je periferni arterijski tlak ili AIX, PWV cijelo vrijeme mjerenja bio relativno stabilnih vrijednosti (171). Ipak, na individualnom nivou, PWV se ipak ciklički mijenja kroz sam proces HD-a, uključujući kod većine bolesnika njegov pad na kraju samog procesa (172). Pokazano je da je PWV viši nakon trodnevne dijalizne pauze u usporebi s dvodnevnom pauzom (173). Jedna od hipoteza koja to objašnjava je da opterećenje volumenom povisuje aortalni tlak i krutost arterija. Tome u prilog ide i pokazano smanjena smrtnost u bolesnika koji obavljaju svakodnevni kućni HD u usporedbi s onima koji obavljaju intermitentni HD u centrima, kao i PWV koji je u tih pacijenata niži, vjerojatno zbog bolje kontrole volumena tjelesnih tekućina i manje elektrolitskih disbalansa koji češće nastaju u pauzama između HD-a (172). Pretjerano visoki PWV povezan je s izraženijom hipertrofijom lijeve klijetke u bolesnika na HD-u, što dodatno objašnjava kako povećana krutost arterija mehanistički doprinosi razvoju hipertrofije lijeve klijetke u toj grupi bolesnika (174). Unatoč tome, nije dokazano da hemodijafiltracija (HDF), kojom bi se trebalo smanjiti ukupni stres ultrafiltracije i poboljšati kardiovaskularni ishodi, djeluje povoljnije na krutost arterija nasuprot standardnom HD-u (175). U studiji s ukupno 148 bolesnika na HD-u i 141 na HDF-u nije dokazana razlika u PWV-u između ove dvije promatrane grupe bolesnika (176).

Na pojačanu krutost arterija itekako utječu vaskularne kalcifikacije koje su u bolesnika na HD-u česte, značajne i progresivne, a uzroci su mnogobrojni. Čimbenici koji tome dodatno doprinose su upotreba kalcijских vezača fosfata, kao i visoka koncentracija kalcija u dijalizatu. Osim toga, egzogeni unos kalcija u bolesnika liječenih HD-om povezan je s izraženijom krutosti arterija, neovisno o dobi, arterijskom tlaku i duljini liječenja HD-om (177). S povišenim PWV-om povezane su i više koncentracije kalcija u dijalizatu, iako je u tim studijama bio nešto manji broj sudionika (178). Jedna mala opservacijska studija u kojoj se pratilo 20 bolesnika na HD-u pokazala je kako se smanjenje koncentracije kalcija u dijalizatu s 1.75 mmol/L na 1.25 mmol/L odrazilo na smanjenje PWV-a, kao i drugih markera serumske kalcifikacije (179). Još jedna manja randomizirana nezaslijepljena studija pokazala je povezanost koncentracije kalcija u dijalizatu, vremena dijalize te PWV-a, gdje se potvrdila činjenica da je PWV viši kod onih koji se dulje dijaliziraju s većim koncentracijama kalcija (180).

1.4.4. PWV u bolesnika s bubrežnim presatkom

TB poboljšava kardiovaskularne ishode i preživljenje, ali njezin utjecaj na arterijsku krutost još je uvijek kontroverzan. TB potencijalno može ublažiti daljnje pogoršanje arterijske krutosti (181), a dob donora, živi donori i prosječni arterijski krvni tlak čine se glavnim čimbenicima koji utječu na poboljšanje arterijske krutosti nakon TB-a. Prediktivna vrijednost PWV-a za kardiovaskularnu smrtnost također je zabilježena kod pacijenata s bubrežnim presatkom, a čini se da dolazi do smanjenja uobičajeno povišenih vrijednosti PWV-a koje se inače viđaju kod uznapredovalog KBB-a (182). U prospektivnoj kohorti gdje se pratilo 66 transplantiranih bolesnika, nije evidentiran značajan porast PWV-a kroz godinu dana, nasuprot brojnim studijama koje su pokazale progresiju PWV-a u bolesnika s KBB-om u jednakom vremenskom intervalu (181). Nekoliko manjih studija pokazalo je smanjenje CIMT-a, kao i PWV-a, usporedno s kontrolnom skupinom jednake starosti na HD-u. Vrijednost PWV-a u transplantiranih bolesnika korelira s prethodnim vremenom provedenim na HD-u, a vrijednosti PWV-a se nikad ne normaliziraju i nikad se ne vrate na vrijednosti kao u općoj populaciji, posljedično ireverzibilnosti strukturalnih promjena na krvnim žilama (183).

2. HIPOTEZA

Bolesnici na kroničnoj hemodijalizi, koji nemaju šećernu bolest i imaju višu koncentraciju serumskog endokana kao markera disfunkcije endotela i vaskularnog oštećenja, imat će i veće brzine pulsnog vala kao mjeru krutosti arterija te lošiji kardiovaskularni i ukupni ishod.

3. CILJ

Glavni cilj istraživanja jest istražiti odnos između serumske koncentracije endokana i PWV-a u bolesnika na kroničnoj hemodijalizi koji nemaju šećernu bolest te njihov utjecaj na nastanak KVD-a i na ukupno preživljenje. Dodatni ciljevi jesu istražiti odnose između endokana i PWV-a s ostalim biokemijskim i hemodinamskim parametrima te istražiti postoji li mogućnost korištenja PWV-a i koncentracije endokana kao prediktora nastanka KVD-a i smrti.

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Ova je jednocentrična, nerandomizirana, opservacijska prospektivna kohortna studija provedena od ožujka 2018. do ožujka 2023. godine u Zavodu za nefrologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek, u Osijeku, Hrvatska.

4.2. Ispitanici

U istraživanje je uključeno ukupno 75 bolesnika oba spola koji su ispunjavali kriterije uključivanja.

Kriteriji uključivanja sudionika u studiju bili su sljedeći:

- 1) dob starija od 18 godina
- 2) provođenje HDF-a najmanje 3 mjeseca
- 3) HDF barem tri puta tjedno po 4 sata
- 4) anurija - maksimalni volumen urina do 200 mL u 24 sata
- 5) Kt/V (klirens uree pomnožen s vremenom na HDF-u podijeljen s ukupnim volumenom distribucije uree) kao pokazatelj adekvatnosti dijalize morao je biti veći od 1,4

Iz studije su isključeni sljedeći bolesnici:

- 1) bolesnici u aktivnom onkološkom liječenju ili ako je prošlo manje od 5 godina od završetka liječenja onkološke bolesti
- 2) bolesnici s FA-om s ubrzanim ventrikulskim odgovorom i simptomatskim HF-om
- 3) bolesnici s amputacijom donjih ekstremiteta
- 4) bolesnici s aktivnim simptomima ili potvrđenom i liječenom sustavnom upalnom ili infektivnom bolešću
- 5) bolesnici sa šećernom bolešću
- 6) bolesnici s već preboljelim KVD-om.

KVD-i su definirani kao bar jedan od sljedećih događaja: akutni koronarni sindrom, cerebrovaskularni inzult ili hospitalizacija zbog epizode akutnog HF-a.

Svaki je ispitanik bio detaljno obaviješten o svim protokolima i procedurama ovog istraživanja te su potpisali informirani pristanak za sudjelovanje, u skladu sa suvremenim etičkim i deontološkim načelima. Protokol istraživanja bio je u skladu s najnovijom revizijom Helsinške deklaracije te ga je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Osijek i Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Osijek (broj: R2-6782/2018, datum odobrenja: 3. svibnja 2018.). Studija je provedena u Zavodu za nefrologiju i Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek.

4.3. Metode

4.3.1. Demografski podatci

Demografski podaci i anamneza prikupljeni su iz medicinske dokumentacije; evidentirani su dob, spol, trajanje HD-a, vaskularni pristup, etiologija KBB-a, povijest KVD-a, maligne, upalne, zarazne bolesti te ŠB.

4.3.2. Antropometrijska mjerenja

Svatom sudioniku izmjerene su tjelesna visina i težina prije HD-a na digitalnoj vagi i visinometru Seca, a interdijalizni porast tjelesne težine bilježen je u odnosu na procijenjenu suhu težinu određenu bioimpedancijskom metodom korištenjem uređaja BCM (*Body Composition Monitor, Fresenius Medical Care, Njemačka*). BCM koristi bioelektričnu impedancijsku spektroskopiju – tehniku koja mjeri električni otpor tijela na slab električni signal koji prolazi kroz tkiva. Različita tkiva (mišići, mast, voda) pružaju različit otpor pa uređaj može odvojeno procijeniti ukupnu tjelesnu vodu, izvanstaničnu vodu, unutarstaničnu vodu, mišićnu i masnu masu te volumen preopterećenja tekućinom. Pet minuta prije mjerenja i tijekom mjerenja, pacijent treba mirovati. Mjerenje se provodi u ležećem položaju, bez cipela, čarapa i nakita (osobito metalnog), tijelo treba biti suho i opušteno, a ruke i noge odmaknute od tijela. Zatim se postavljaju četiri samoljepljive elektrode, i to dvije na ruku (na zapešće i stražnju stranu šake ili palac) te dvije na nogu (na gležanj i dorzalni dio stopala). Elektrode su spojene na BCM putem kabela. Uređaj funkcionira tako što propušta slab električni signal (1 miliamper, mA) kroz tijelo pri 50

frekvencija (od 5 kHz do 1 MHz). Mjerenje traje 1 do 2 minute. Pacijent ne osjeća struju te je mjerenje potpuno bezbolno i sigurno. Uređaj automatski izračunava rezultate i prikazuje sljedeće rezultate: tjelesnu masu bez masti, masnu masu, ukupnu, intracelularnu i ekstracelularnu vodu te preopterećenje tekućinom. Rezultati se uspoređuju s referentnim vrijednostima prema spolu, dobi i visini. Kod bolesnika na HD-u koristi se za: procjenu hidracijskog statusa (važan za određivanje suhe težine), praćenje prehrambenog statusa i gubitka mišićne mase te za procjenu rizika od komplikacija (hiperhidracija, malnutricija). Suha težina u pacijenata na kroničnom programu HD-a označava onu težinu nakon HD-a na kojoj je arterijski tlak uredan, a nema znakova niti volumne preopterećenosti, niti dehidracije, te je bolesnik volumno najstabilniji. Nakon toga, izračunat je BMI, a sudionici su se ponovno vagali nakon HD-a.

4.3.3. Biokemijske analize

Jedan dio krvnih uzoraka odmah se analizirao u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek primjenom standardiziranih laboratorijskih protokola i postupaka. Uzorci su prikupljeni u epruvetama s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) na dan uključivanja u studiju.

Analizirani su rutinski biokemijski parametri:

- 1) kompletna krvna slika
- 2) CRP
- 3) ukupni kolesterol
- 4) LDL-kolesterol
- 5) glukoza
- 6) HbA_{1c}
- 7) albumin
- 8) kalcij
- 9) fosfor
- 10) paratireoidni hormon (PTH)
- 11) feritin
- 12) željezo

Preostali dio uzoraka, nakon centrifugiranja 15 minuta na $1000\times g$ pri sobnoj temperaturi, pohranjen je na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ do analize. Poseban uzorak krvi za serumsku analizu endokana

analiziran je ELISA-om na Magnetic Luminexu (*Magnetic Luminex® Screening Assay, R&D Systems, Minneapolis, SAD*) u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Osijek. ELISA je enzimski imunoesej – laboratorijska metoda za kvantifikaciju specifičnih molekula (najčešće proteina, npr. hormona, citokina, antitijela, antigena) u biološkim uzorcima poput seruma, plazme, urina ili stanica. Koristi princip antigen–antitijelo i enzimске reakcije koja proizvodi mjerljivi kolorimetrijski signal. Osnovni su principi imunološka specifičnost kojom se koristi antitijelo koje se specifično veže na željeni analit; slijedi enzimska amplifikacija, postupak kojim je na antitijelo vezan enzim koji proizvodi boju kada dođe u kontakt sa supstratom; i naposljetku mjerljivost – intenzitet boje proporcionalan koncentraciji tražene molekule. Za najčešći tip ELISA-e, tzv. *sandwich ELISA*, tipičan je sljedeći analitički slijed: oblaganje pločice; mikrotitarna pločica oblaže se hvatnim antitijelom specifičnim za ciljni protein. Slijedi inkubacija: dodaje se uzorak (npr. serum) te se analit veže na hvatno antitijelo. Potom se pranjem uklanjaju sve nespecifične komponente te se odaje drugo detekcijsko antitijelo koje se veže na druge epitope ciljnog analita koje je često biotinizirano. Zatim se dodaje enzim (npr. streptavidin–HRP, eng. *horseradish peroxidase*) koji se veže na biotin koji nosi enzim (npr. HRP). Potom se doda supstrat, a enzim katalizira reakciju i proizvodi plavi signal, koji se može zaustaviti kiselinom (žuti signal). Intenzitet boje očitava se spektrofotometrom (*ELISA reader*) – obično na 450 nm. Magnetic Luminex koristi ELISA-u za *multiplex* analizu – platformu *multiplex ELISA* koja koristi magnetske mikrosfere (umjesto pločica kao u klasičnoj ELISA-i), fluorescencijsku detekciju (umjesto enzimskog kolorimetrijskog signala) te instrument za očitavanje Luminex. Ima mnogo veću analitičku snagu te može mjeriti do 100 biomarkera odjednom iz samo 25–50 µL uzorka. Protokol Magnetic Luminex ELISA započinje dodavanjem mikrosfera: svaki skup mikročestica (eng. *beads*) nosi specifično antitijelo i kodiran je vlastitom bojom. Dodavanjem uzorka (npr. serum, plazma), ciljni analiti vežu se na svoja antitijela na skupu mikročestica. Zatim se dodaje biotinizirano detekcijsko antitijelo te se formira sendvič-kompleks (kao u klasičnoj ELISA-i). Potom se dodaje streptavidin–PE (eng. *phycoerythrin*) koji se veže na biotin. PE daje fluorescenciju proporcionalnu količini analita. Neželjene komponente se ispiru tzv. magnetskim pranjem (pomoću magnetne ploče). Rezultati se očitaju na instrumentu Luminex gdje se utvrđuje o kojem se točno analitu radi te kolika je fluorescencija, odnosno njegova koncentracija.

Uzorci krvi za biokemijsku analizu uzeti su neposredno prije srednje tjedne hemodijalize (srijeda ili četvrtak), zajedno s mjerenjem centralnih i perifernih hemodinamskih

parametara. Volumni status tada je najstabilniji, što smanjuje varijabilnost zbog preopterećenja tekućinom ili prekomjerne dehidracije. Također, krvni tlak i vaskularni tonus tada su ujednačeniji u usporedbi s vrijednostima nakon HD-a, kada dolazi do vazodilatacije i pomaka volumena. Stoga je taj vremenski okvir optimalan za standardizaciju mjerenja.

4.3.4. Procjena perifernih i centralnih hemodinamskih parametara

Dva uzastopna mjerenja sljedećih parametara provedena su prije i nakon srednje tjedne hemodijalize pomoću uređaja Mobil-O-Graph Agedio B900 (*IEM GmbH, Aachen, Njemačka*):

- 1) PWV
- 2) periferni sistolički tlak (eng. *systolic blood pressure*, SBP)
- 3) periferni dijastolički tlak (eng. *diastolic blood pressure*, DBP)
- 4) broj srčanih otkucaja (eng. *heart rate*, HR)
- 5) srednji arterijski tlak (eng. *mean arterial pressure*, MAP)
- 6) tlak pulsa (eng. *pulse pressure*, PP)
- 7) centralni aortni SBP
- 8) centralni aortni DBP
- 9) centralni MAP
- 10) centralni PP
- 11) augmentacijski indeks, AIx (eng. *augmentation index*)

Mobil-O-Graph koristi oscilometrijsku metodu za mjerenje krvnog tlaka i dodatno mjeri oblik pulsa kako bi se procijenila krutost arterija. Na temelju analize tog vala računaju se: PWV (brzina širenja pulsog vala, što odražava krutost arterija), AIx (pokazatelj refleksije vala, koji govori o funkciji i stanju arterijske stijenke) te centralni krvni tlak. Uređaj koristi algoritam ARCSolver (Austrian Institute of Technology, Beč) za obradu i modeliranje pulsa. Algoritam rekonstruira oblik centralnog vala na temelju periferno izmjenjenog brahijalnog vala. Mjerenje započinje mjerenjem perifernog krvnog tlaka primjerice klasičnim oscilometrijskim automatskim sfigmomanometrom. Zatim se zabilježi oblik vala te, dok se manšeta polako ispuhuje, uređaj bilježi fluktuacije tlaka uzrokovane pulsom. Izračun PWV-a i AIx-a dobiva se temeljem zabilježenog oblika pulsa te se upotrebljavaju

matematičke transformacije (tzv. generalizirana transfer-funkcija) kako bi se procijenio izgled centralnog (aortnog) vala. Koriste se razlike u vremenu dolaska reflektiranog vala za izračun PWV-a, dok se AIx izračunava kao omjer amplituda glavnog i reflektiranog vala. Sam uređaj uključuje manšetu koja dolazi u tri različite veličine (mala, srednja i velika, ovisno o veličini nadlaktice koja se prethodno izmjeri), zatim sam mjerni uređaj te tablet (Apple Inc., Kalifornija, SAD) s programom na kojemu se prikazuju rezultati. Prije mjerenja pacijent miruje najmanje pet minuta te sjedi s ispruženom rukom kako bi manšeta bila u razini srca, bez križanja nogu te s oslonjenim stopalima na pod. Ne smije govoriti tijekom mjerenja. Zatim se manšeta stavlja na nadlakticu (u našem slučaju na onu gdje nije AVF), spoji se s uređajem Mobil-O-Graph putem cijevi i senzora, a uređaj automatski napuše manšetu na određeni tlak. Oblik pulsa mjeri se tijekom polaganog ispuhivanja manšete kada uređaj bilježi fine oscilacije arterijskog tlaka izazvane srčanim otkucajima. Oblik vala interpretira se pomoću ugrađenog algoritma i računaju se PWV, AIx, centralni SBP, centralni DBP kao i ostali parametri periferne i centralne hemodinamike, kao što su srčana frekvencija, PP, MAP te periferni SBP i DBP u jednom postupku. Istraživač u uređaj unosi i dodatne podatke, kao što su bolesnikova dob, spol, tjelesna težina i visina.

Radi određivanja razlike i njezine statističke značajnosti, učinjena su dva uzastopna mjerenja. Nakon mjerenja, uređaj isporučuje dva izvješća – prvo za bolesnike s procjenom vaskularne dobi, a drugo za liječnika koje izvještava o hemodinamskim parametrima: centralni aortalni SBP i DBP, periferni SBP i DBP, periferni i centralni MAP, periferni i centralni PP, HR, PWV te AIx.

Nakon tih mjerenja, sudionicima bi se uzela krv za biokemijsku analizu parametara te su potom uključivani na HDF. Nakon četiri sata HDF-a i odmora od 15 minuta u supinacijskom položaju, mjerenja su po istom principu ponovljena. Ovakav pristup mjerenju odabran je jer neposredno nakon HD-a dolazi do pada krvnog tlaka i vazodilatacije, što može podcijeniti arterijsku krutost, dok je nakon dulje stanke (ponedjeljak ili utorak) česta hipervolemija, što može lažno povećati PWV.

4.3.5. Ishodi

Ishodi istraživanja uključivali su:

- 1) KVD

- 2) kardiovaskularnu smrtnost
- 3) smrtnost od ostalih uzroka.

KVD je definiran kao AKS, cerebrovaskularni inzult ili hospitalizacija zbog epizode akutnog HF-a. Kardiovaskularna smrtnost jest nastup smrti zbog gore navedenih razloga. Uzrok smrti utvrđen je iz medicinske dokumentacije i intervju s liječnicima i članovima obitelji. Ispitanici koji su tijekom praćenja transplantirani bili su isključeni iz analize.

4.4. Statističke metode

Demografske, biokemijske i kliničke karakteristike prikazane su prema tercilima razine serumskog endokana, odnosno razini PWV-a koristeći deskriptivnu statistiku.

Kategorijske varijable uspoređene su pomoću hi-kvadrat testa s korekcijom za kontinuitet. Numeričke varijable normalne distribucije analizirane su pomoću jednosmjerne analize varijance (ANOVA-e). Numeričke varijable bez normalne distribucije analizirane su Kruskal–Wallis testom. Podatci su prikazani kao apsolutni broj i postotak za kategorizirane varijable, srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija (SD) za normalno distribuirane varijable, odnosno kao medijan [Q1, Q3] kod ostalih distribucija podataka.

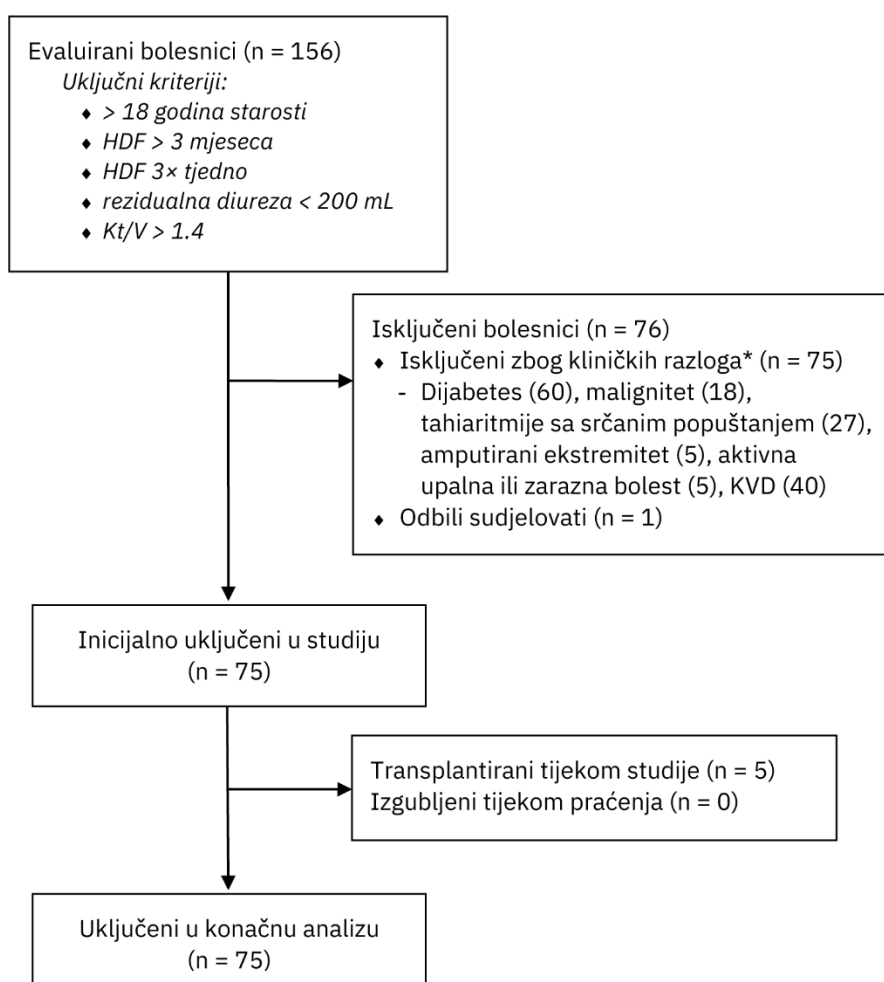
Povezanost serumskih razina endokana i PWV-a s KVD-om i smrtnošću analizirana je metodom vremena-do-događaja pomoću Kaplan–Meierovih krivulja preživljenja i multivarijatnih Coxovih proporcionalnih modela hazarda. Endokan je analiziran kao kontinuirana varijabla i prema tercilima, dok je PWV analiziran kao kontinuirana varijabla te dvije grupe ovisne o graničnoj vrijednosti (manje od, odnosno barem 10 m/s).

Iz Coxovih modela prikazani su hazard-omjeri (HR) s 95-postotnim intervalima pouzdanosti (95%-CI). Modeli su bili prilagođeni za unaprijed određene potencijalne zbunjujuće čimbenike (eng. *confoundere*) na temelju kliničke ekspertize: dob, spol, trajanje HD-a, albumin, BMI, centralni SBP i Alx.

Sve su analize provedene u programu R, verzija 4.4.1 (R Core Team, Beč, Austrija).

5. REZULTATI

Pacijenti su uključeni u studiju između ožujka 2018. i ožujka 2019. godine, a praćenje je trajalo do ožujka 2023. godine. Medijan trajanja praćenja iznosio je 40 [18,5–60] mjeseci. Tijekom tog razdoblja ukupno je 156 pacijenata inicijalno ušlo u probir za uključivanje u istraživanje. Nakon isključenja onih koji nisu ispunjavali kriterije uključivanja ili su odbili sudjelovanje, u konačnu analizu i praćenje uključeno je 80 pacijenata. Ukupno je pet pacijenata tijekom praćenja transplantirano, stoga su isključeni iz daljnjih analiza. Dijagram toka koji prikazuje proces odabira sudionika prikazan je na Slici 5.1.



Slika 5.1. Dijagram toka u procesu odabira sudionika za studiju.

5.1. Endokan

5.1.1. Demografske, kliničke i biokemijske karakteristike

U studiju je bilo uključeno ukupno 75 ispitanika koji su potom stratificirani u tercile prema koncentracijama serumskog endokana. Od ukupnog su broja 31 (41,3 %) bile žene. Medijan dobi u ukupnoj populaciji iznosio je 70 [59, 76,5] godina, dok je medijan trajanja HD-a bio 52 mjeseca [21,5, 108,5]. Vaskularni pristup putem tuneliranog centralnog venskog katetera (TCVK) imalo je 34 pacijenata (45,33 %). Ostale detaljne demografske, biokemijske i kliničke karakteristike ispitanika, stratificirane prema razinama endokana, prikazane su u tablici 5.1.

Tablica 5.1. Demografske, biokemijske i kliničke karakteristike stratificirane prema razinama endokana.

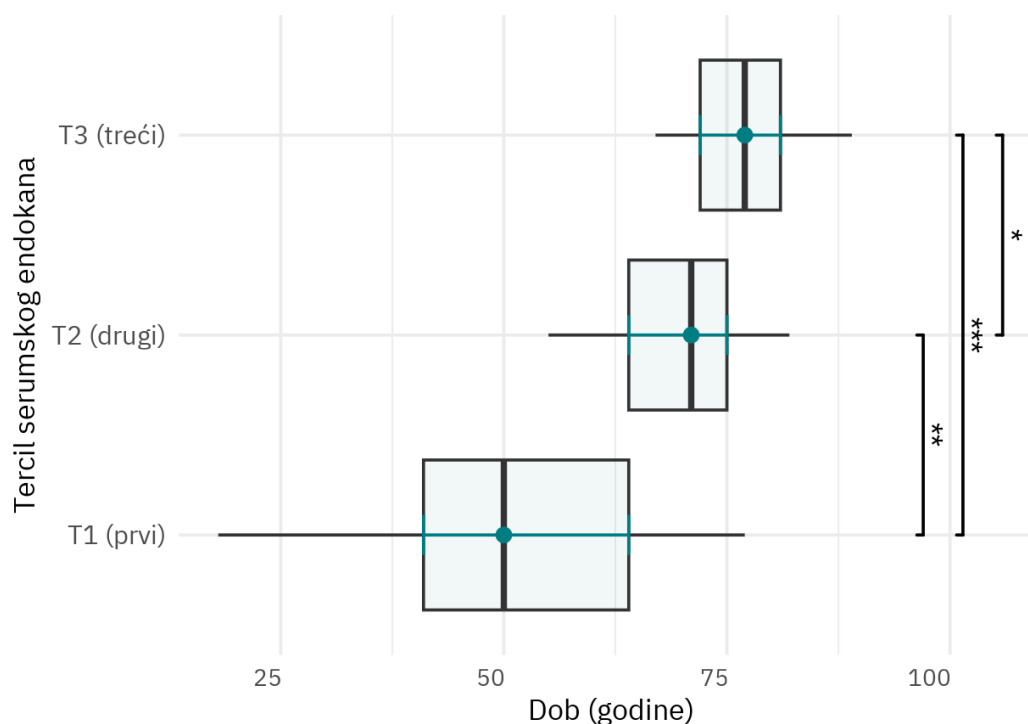
Kategorija	Prvi tercil serumske koncentracije endokana	Drugi tercil serumske koncentracije endokana	Treći tercil serumske koncentracije endokana	P-vrijednost
Serumski endokan [µg/L]	2,99–4,67	4,68–6,29	6,30–7,93	
Broj pacijenata	25 (33,3 %)	25 (33,3 %)	25 (33,3 %)	
Spol: muški	18 (72,0)	14 (56,0)	12 (48,0)	0,214
Spol: ženski	7 (28,0)	11 (44,0)	13 (52,0)	
Dob (godine)	50,00 [41,00, 64,00]	71,00 [64,00, 75,00]	77,00 [72,00, 81,00]	<0,001*
Trajanje HD (mjeseci)	31,00 [6,00, 96,00]	53,00 [21,00, 109,00]	62,00 [48,00, 97,00]	0,083
Interdijalizni porast tjelesne mase (kg)	2,56 (1,06)	2,28 (0,99)	2,44 (1,03)	0,629
Indeks tjelesne mase (kg/m ²)	27,39 [24,40, 30,44]	25,91 [22,50, 28,22]	26,40 [23,20, 29,70]	0,448
Vaskularni pristup: CVK	6 (24,0)	15 (60,0)	13 (52,0)	0,027*

Vaskularni pristup: AVF	19 (76,0)	10 (40,0)	12 (48,0)	
Praćenje (mjeseci)	60,00 [60,00, 60,00]	38,00 [20,00, 60,00]	23,00 [14,00, 32,00]	<0,001*
Doza dijalize (Kt/V)	1,61 (0,19)	1,66 (0,18)	1,67 (0,20)	0,491
Leukociti ($\times 10^9/L$)	7,00 (1,86)	6,75 (2,08)	7,34 (2,25)	0,596
Eritrociti ($\times 10^{12}/L$)	3,78 (0,46)	3,68 (0,43)	3,60 (0,43)	0,342
Hemoglobin (g/L)	109,64 (10,24)	105,88 (9,50)	106,64 (8,26)	0,330
Trombociti ($\times 10^9/L$)	214,00 [178,00, 238,00]	189,00 [177,00, 275,00]	174,00 [135,00, 226,00]	0,369
CRP (mg/dL)	5,50 [4,50, 8,00]	7,80 [4,00, 13,42]	17,60 [11,80, 24,40]	<0,001*
Albumin (g/L)	39,00 [36,70, 40,30]	36,60 [34,30, 37,90]	37,10 [35,20, 39,00]	0,026*
Glukoza (mmol/L)	4,80 [4,40, 5,10]	4,50 [4,30, 4,90]	4,70 [4,40, 5,00]	0,475
Željezo (mmol/L)	10,20 [9,30, 12,10]	9,30 [7,60, 14,20]	8,90 [6,50, 11,10]	0,091
Feritin (ng/mL)	289,00 [123,40, 437,50]	437,60 [252,70, 687,60]	434,90 [286,80, 546,00]	0,070
Ukupni kolesterol (mmol/L)	4,53 (1,13)	4,43 (1,13)	3,96 (1,26)	0,196
LDL-kolesterol (mmol/L)	2,12 [1,89, 2,67]	2,12 [1,76, 2,35]	1,87 [1,43, 2,23]	0,236
Kalcij (mmol/L)	2,23 [2,07, 2,34]	2,33 [2,18, 2,41]	2,21 [2,04, 2,30]	0,139
Fosfor (mmol/L)	1,77 (0,37)	1,63 (0,45)	1,58 (0,39)	0,491
PTH (pg/mL)	222,00 [112,00, 307,00]	348,00 [253,00, 423,00]	283,00 [162,00, 403,00]	0,085
Endokan ($\mu g/L$)	4,34 (0,47)	5,73 (0,36)	6,79 (0,40)	<0,001
Terapija: RAAS inhibitor (%)	15 (60,0)	19 (76,0)	15 (60,0)	0,390

Terapija: blokator kalcijskih kanala (%)	16 (64,0)	11 (44,0)	15 (60,0)	0,321
Terapija: beta blokator (%)	16 (64,0)	15 (60,0)	12 (48,0)	0,492
Terapija: statin (%)	15 (60,0)	17 (68,0)	15 (60,0)	0,796
Uzrok KBB-a: glomerulonefritis (%)	7 (28,0)	6 (24,0)	8 (32,0)	0,447
Uzrok KBB-a: arterijska hipertenzija (%)	5 (20,0)	7 (28,0)	9 (36,0)	
Uzrok KBB-a: kronični pijelonefritis (%)	3 (12,0)	4 (16,0)	3 (12,0)	
Uzrok KBB-a: policistična bolest bubrega (%)	4 (16,0)	2 (8,0)	0 (0,0)	
Uzrok KBB-a: tubulointersticijski nefritis (%)	0 (0,0)	3 (12,0)	2 (8,0)	

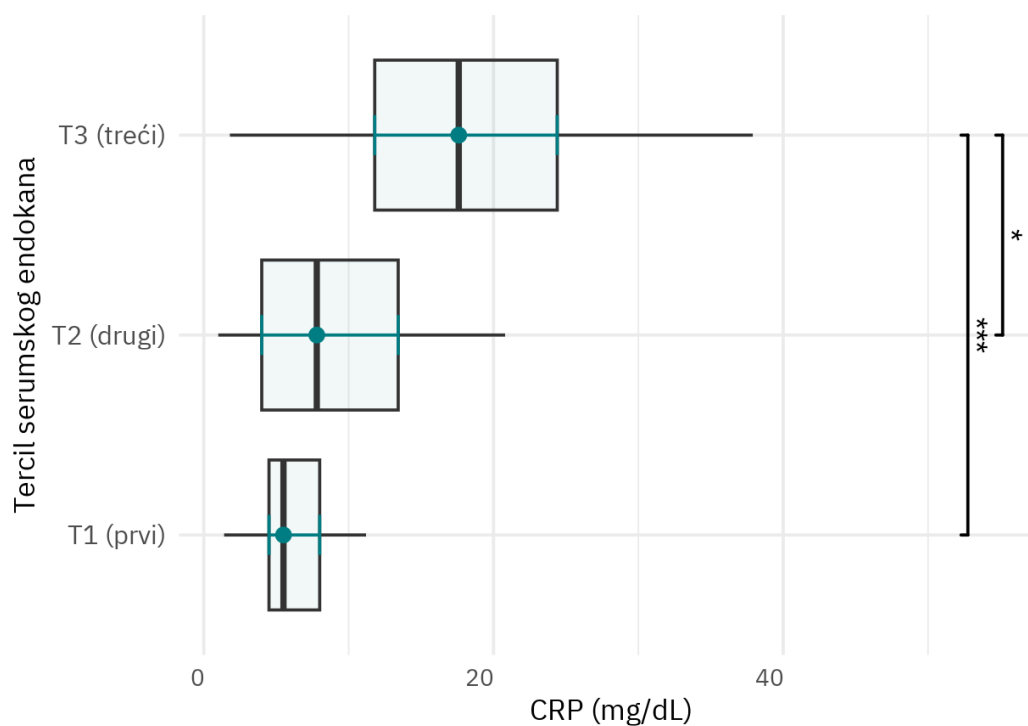
Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. HD – hemodijaliza; CVK – centralni venski kateter; AVF – arteriovenska fistula; CRP – C-reaktivni protein; LDL – lipoprotein niske gustoće (eng. *low density cholesterol*); PTH – paratireoidni hormon; RAAS – sustav renin-angiotenzin-aldosteron; KBB – kronična bubrežna bolest.

Pacijenti s višim razinama endokana bili su stariji (50,00 [41,00, 64,00], 71,00 [64,00, 75,00] i 77,00 [72,00, 81,00] godina za prvi, drugi i treći tercil), što je prikazano na slici 5.2. i češće su imali TCVK. U prvom tercilu broj pacijenata s TCVK-om bio je značajno manji, a broj pacijenata s AVF-om značajno veći. Ostali pokazatelji, poput spola, trajanja hemodijalize, interdijaliznog porasta tjelesne mase, doze dijalize, etiologije KBB-a te primjene antihipertenzivne i hipolipemijske terapije, nisu pokazali statistički značajnu povezanost s razinama endokana.

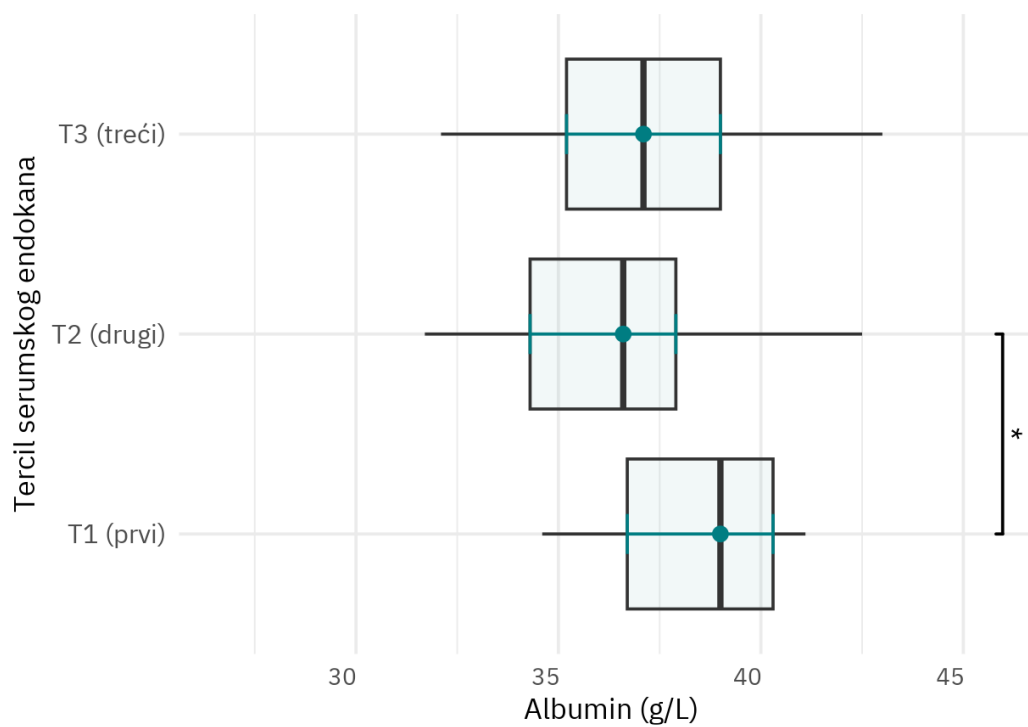


Slika 5.2. Grafički prikaz terčila endokana ovisno o dobi.

Što se tiče biokemijskih parametara, pacijenti s višim razinama endokana imali su statistički značajno više vrijednosti CRP-a i niže koncentracije serumskog albumina. Statistički značajna razlika za CRP uočena je između prvog i trećeg terčila, kao i između drugog i trećeg terčila, što je grafički prikazano na slici 5.3. Za albumin, statistički značajna razlika zabilježena je samo između prvog i drugog terčila, što je grafički prikazano na slici 5.4. Vrijednosti leukocita, eritrocita, trombocita, hemoglobina, željeza, feritina, kalcija, glukoze, HbA_{1c}, fosfora, PTH-a, ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola nisu pokazale statistički značajnu povezanost s različitim razinama serumskog endokana. Detaljna analiza svih ispitivanih varijabli prikazana je u tablici 5.1. uz oznake statističke značajnosti.



Slika 5.3. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o CRP-u.



Slika 5.4. Grafički prikaz tercila endokana ovisno o koncentraciji albumina.

5.1.2. Parametri periferne i centralne hemodinamike

Periferni i centralni hemodinamski parametri ispitanika, razvrstani prema koncentraciji serumskog endokana, sažeti su u tablici 5.2.

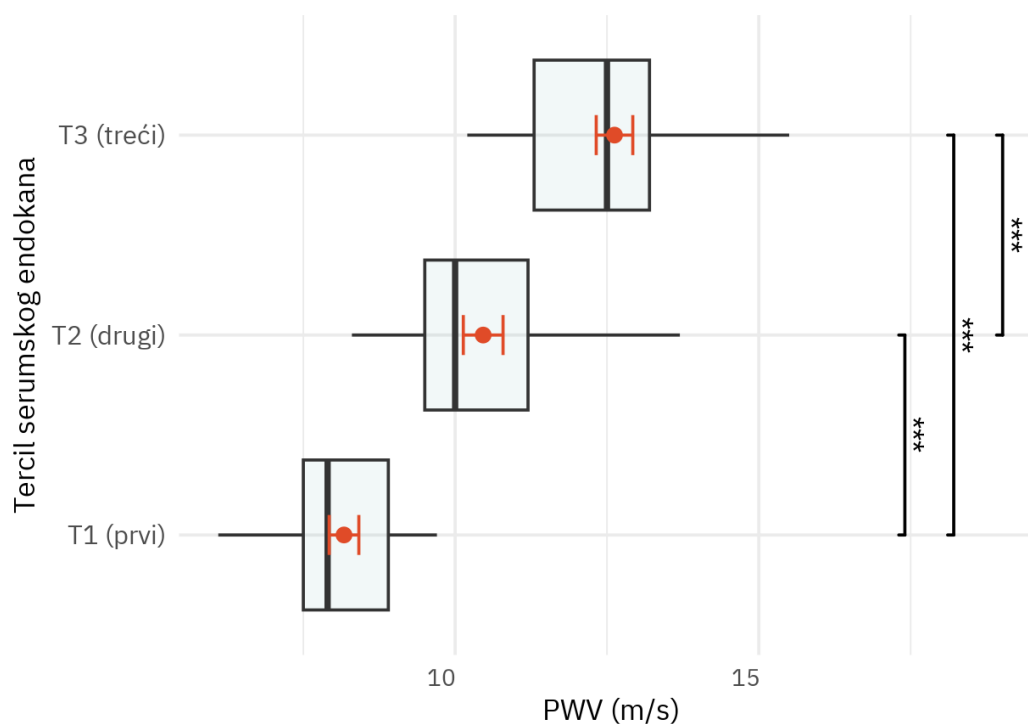
Tablica 5.2. Periferni i centralni parametri hemodinamike prema koncentraciji serumskog endokana.

Kategorija	Prvi tercil serumske koncentracije endokana	Drugi tercil serumske koncentracije endokana	Treći tercil serumske koncentracije endokana	P-vrijednost
Serumski endokan [µg/L]	2,99–4,67	4,68–6,29	6,30–7,93	
PWV (m/s)	8,17 (1,22)	10,46 (1,64)	12,62 (1,51)	<0,001*
PWV nakon HD (m/s)	7,88 (1,57)	10,36 (1,64)	11,94 (1,45)	<0,001*
Periferni SBP (mmHg)	143,00 [137,00, 152,00]	152,00 [125,00, 164,00]	157,00 [149,00, 173,00]	0,026*
Periferni DBP (mmHg)	88,20 (14,07)	87,36 (14,98)	93,28 (14,83)	0,308
MAP (mmHg)	112,00 [98,00, 122,00]	117,00 [100,00, 121,00]	120,00 [114,00, 134,00]	0,049*
PP (mmHg)	55,40 (8,09)	62,64 (19,62)	69,88 (19,59)	0,012*
HR (otkucaja/min)	75,00 [72,00, 79,00]	71,13 [64,00, 74,00]	70,00 [60,00, 78,00]	0,151
AIx	23,48 (8,23)	27,36 (15,05)	38,56 (10,38)	<0,001*
Centralni SBP (mmHg)	130,00 [126,00, 141,00]	133,00 [118,00, 148,00]	146,00 [131,00, 163,00]	0,024*
Centralni DBP (mmHg)	88,12 (15,57)	87,64 (15,58)	94,60 (15,24)	0,213
Centralni PP (mmHg)	43,00 [39,00, 47,00]	46,00 [38,00, 49,00]	51,00 [44,00, 69,00]	0,029*

Periferni SBP nakon HD (mmHg)	130,00 [120,00, 140,00]	142,00 [125,00, 162,00]	149,00 [131,00, 158,00]	0,059
Periferni DBP nakon HD (mmHg)	84,16 (14,82)	84,60 (19,17)	86,24 (14,97)	0,895
MAP nakon HD (mmHg)	100,00 [92,00, 116,00]	104,00 [96,00, 127,00]	117,00 [104,00, 125,00]	0,143
PP nakon HD (mmHg)	52,00 [41,00, 58,00]	58,00 [47,00, 67,00]	61,00 [48,00, 73,00]	0,124
HR nakon HD (otkucaji/min)	83,52 (14,41)	77,91 (11,52)	75,47 (12,79)	0,087
Aix nakon HD	18,00 [13,00, 32,00]	30,00 [15,00, 40,00]	30,00 [19,00, 43,00]	0,036*
Centralni SBP nakon HD (mmHg)	124,64 (17,96)	131,88 (22,78)	133,60 (19,55)	0,257
Centralni DBP nakon HD (mmHg)	84,64 (16,58)	85,20 (20,22)	88,20 (14,80)	0,738
Centralni PP nakon HD (mmHg)	42,00 [30,00, 50,00]	47,00 [34,00, 55,00]	44,00 [33,00, 53,00]	0,461

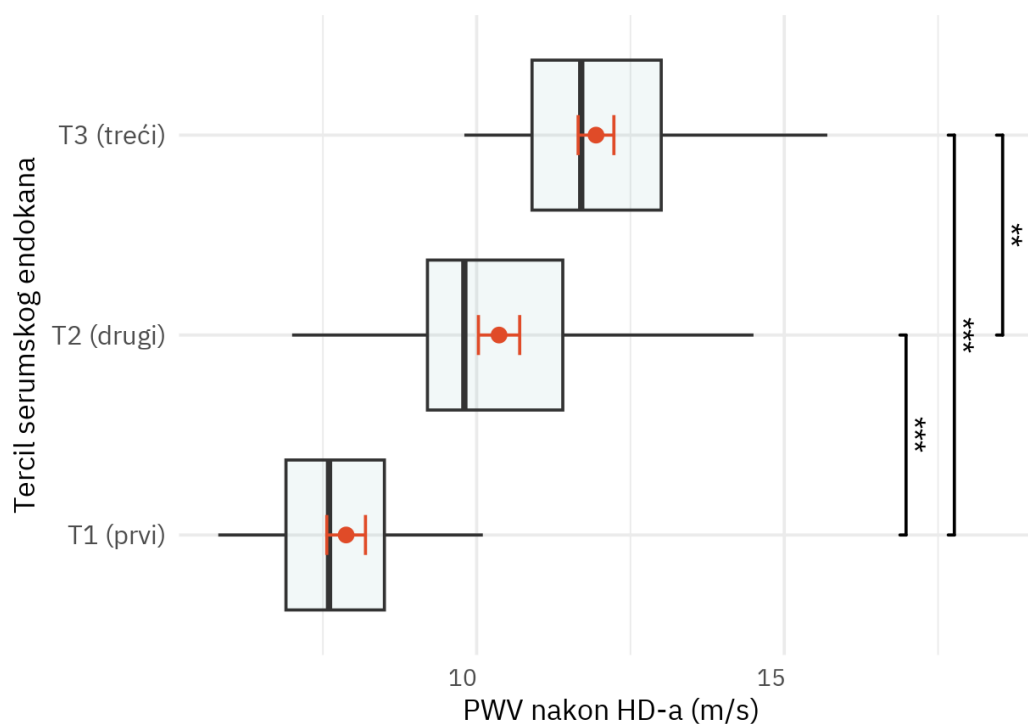
Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. PWV – eng. *pulse wave velocity*, brzina pulsno vala; HD – hemodijaliza; SBP – eng. *systolic blood pressure*, sistolički krvni tlak; DBP – eng. *diastolic blood pressure*, dijastolički krvni tlak; MAP – eng. *mean arterial pressure*, srednji arterijski tlak; PP – eng. *pulse pressure*, tlak pulsa; HR – eng. *heart rate*, srčani otkucaji; Aix – eng. *augmentation index*, indeks augmentacije;

U mjerenjima prije HD-a, više statistički značajne vrijednosti po tercilima zabilježene su za periferni SBP, MAP, PP, centralni aortni SBP i centralni PP, pri čemu su statistički značajne razlike uočene između prvog i trećeg tercila. Za Aix, statistički značajne razlike zabilježene su između drugog i trećeg tercila, kao i između prve i treće tercile, dok je PWV bio statistički značajno povišen kroz sva tri tercila, što je grafički prikazano na slici 5.5.



Slika 5.5. Grafički prikaz terčila endokana ovisno o PWV-u prije HD-a.

U mjerenjima nakon HD-a, PWV i A1x zadržali su statističku značajnost između svih terčila, što je grafički prikazano na slici 5.6. Za ostale hemodinamske parametre nije zabilježena statistički značajna razlika. Detaljna analiza svih ispitivanih varijabli dostupna je u tablici 5.2, uz označene statistički značajne razlike.



Slika 5.6. Grafički prikaz terčila endokana ovisno o PWV-u nakon HD-a.

5.1.3. Preživljenje i ishodi

Ukupno prosječno razdoblje praćenja iznosilo je 40 mjeseci [18,5–60]. Tijekom razdoblja praćenja zabilježena su ukupno 32 KVD-a, od kojih se 20 (62,5 %) dogodilo u bolesnika trećeg terčila koncentracije serumskog endokana, što je bilo statistički značajno.

Od ukupno 75 pacijenata uključenih na početku studije, 46 (61,33 %) je preminulo; među njima je 29 (63,04 %) umrlo zbog KVD-a, dok je 17 (36,96 %) umrlo od drugih uzroka. Među preživjelima, 21 od 29 (72,41 %) nalazilo se u prvoj tercili razine endokana, dok je 20 od 29 (68,97 %) onih koji su umrli zbog KVD-a bilo u trećoj tercili, što je također pokazalo statističku značajnost.

Detaljna analiza svih ispitanih varijabli prikazana je u tablici 5.3. uz označene statistički značajne razlike.

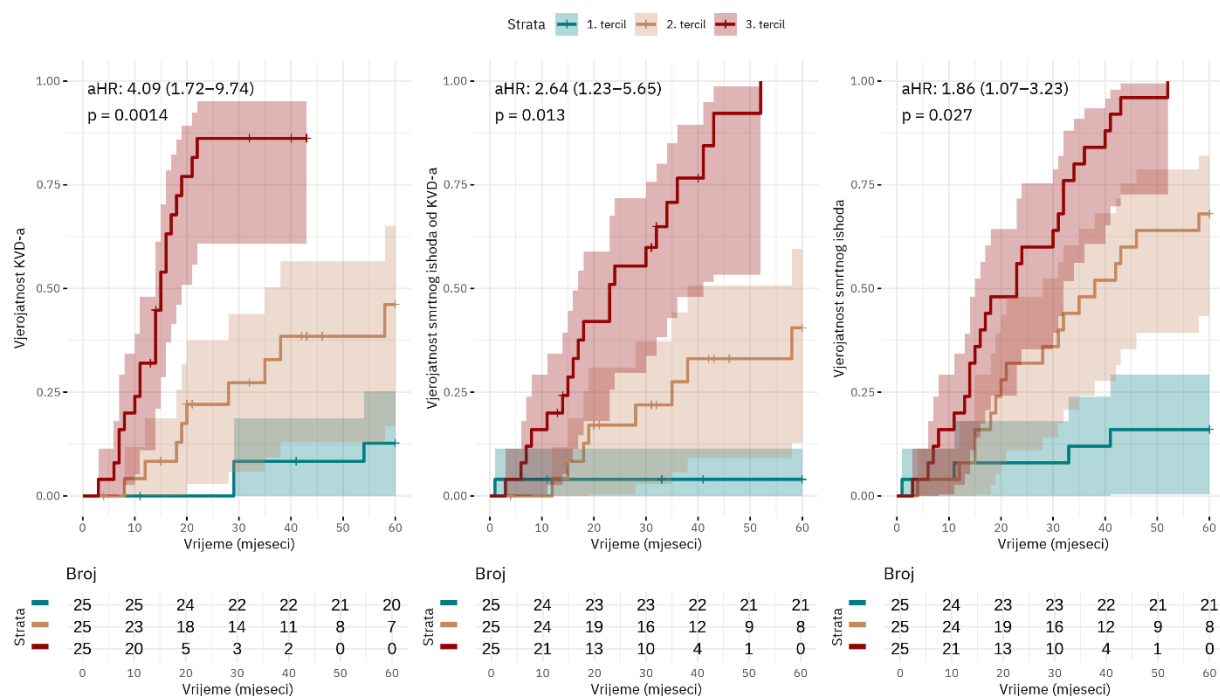
Tablica 5.3. Preživljenje i ishodi ovisno o serumskoj koncentraciji endokana.

Parametri	Prvi tercil serumske koncentracije endokana (2,99–4,67 µg/L)	Drugi tercil serumske koncentracije endokana (4,68–6,29 µg/L)	Treći tercil serumske koncentracije endokana (6,30–7,93 µg/L)	P-vrijednost
Broj pacijenata	25 (33,3)	25 (33,3)	25 (33,3)	
Broj pacijenata s KVD (%)	3 (12,0)	9 (36,0)	20 (80,0)	<0,001*
Uzrok smrti:				<0,001*
- nije primjenjivo (preživjeli sudionici) (%)	21 (84,0)	8 (32,0)	0 (0,0)	
- KVD (%)	1 (4,0)	8 (32,0)	20 (80,0)	
- drugi uzroci (%)	3 (12,0)	9 (36,0)	5 (20,0)	

Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. KVD – kardiovaskularni događaj

5.1.4. Multivarijatne analize i regresijski modeli

Analiza vremena do događaja provedena je pomoću Kaplan–Meierovih krivulja preživljenja i multivarijatnih Coxovih proporcionalnih hazard modela, prilagođenih za unaprijed definirane potencijalne zbunjujuće čimbenike (dob, spol, trajanje HD-a, koncentraciju albumina, BMI, centralni SBP i Alx), a rezultati su prikazani na Slici 5.7.



1. graf – vjerojatnost KVD-a; 2. graf – vjerojatnost smrtnosti od KVD-a; 3. graf – vjerojatnost ukupne smrtnosti ovisno o razini PWV-a

Slika 5.7. Multivarijatna analiza i regresijski modeli ovisno o tercilama endokana.

Jedna unaprijed odabrana varijabla – PWV – isključena je iz konačnog multivarijatnog modela zbog vrlo visoke i značajne kolinearnosti s koncentracijom serumskog endokana (Spearmanov $\rho = 0,82$, $p < 0,0001$), kako bi se očuvala stabilnost i interpretabilnost modela. Povišene razine serumskog endokana bile su neovisno povezane s: povećanom učestalošću KVD-a (aHR = 4,09; 95%-CI: 1,72–9,74; $p = 0,0014$), smrtnošću povezanoj s KVD-om (aHR = 2,64; 95%-CI: 1,23–5,66; $p = 0,012$) te s povećanom ukupnom smrtnošću (aHR = 1,86; 95%-CI: 1,07–3,23; $p = 0,027$) i to prije i nakon prilagodbe za navedene zbunjujuće čimbenike. Najviši tercil razine endokana imao je najkraće preživljenje bez KVD-a.

Detaljni rezultati modela s uključenim varijablama prikazani su u tablici 5.4.

Tablica 5.4. Detaljni rezultati Coxove multivarijatne analize ovisno o endokanu.

Ishodi	KVD		Smrtnost od KVD-a		Ukupna smrtnost	
<i>Varijabla</i>	<i>HR (95%-CI)</i>	<i>P</i>	<i>HR (95%-CI)</i>	<i>P</i>	<i>HR (95%-CI)</i>	<i>P</i>
Endokan	4,09 (1,72–9,74)	0,00144	2,64 (1,23–5,65)	0,0125	1,86 (1,07–3,23)	0,0272
Dob	1,01 (0,96–1,07)	0,711	1,02 (0,97–1,08)	0,386	1,03 (0,99–1,08)	0,11
Spol (muški)	1,96 (0,87–4,41)	0,103	1,04 (0,46–2,37)	0,921	1,30 (0,67–2,52)	0,434
Trajanje HD-a	1,01 (1,00–1,01)	0,0688	1,00 (1,00–1,01)	0,284	1,01 (1,00–1,01)	0,00778
Serumski albumin	0,98 (0,85–1,12)	0,736	1,05 (0,91–1,22)	0,504	0,99 (0,89–1,10)	0,824
BMI	1,00 (0,93–1,07)	0,997	0,99 (0,92–1,06)	0,751	0,99 (0,93–1,05)	0,638
Centralni sistolički tlak	0,99 (0,98–1,01)	0,453	1,00 (0,99–1,02)	0,731	1,00 (0,99–1,02)	0,48
Alx	1,01 (0,98–1,04)	0,7	1,02 (0,99–1,05)	0,253	1,00 (0,98–1,03)	0,926

Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. HD – hemodijaliza; BMI – eng. *body mass index*, indeks tjelesne mase; Alx – augmentacijski indeks, indeks augmentacije.

Kako bi se dodatno procijenila robustnost povezanosti, korišten je i reducirani model konstruiran stepwise selekcijom varijabli na temelju univarijatne značajnosti ($P < 0,05$), u kojem su razine endokana ostale statistički značajne.

5.2. Brzina pulsnog vala

5.2.1. Demografske, kliničke i biokemijske karakteristike

U studiju je bilo uključeno ukupno 75 sudionika koji su, što se razine PWV-a tiče, bili podijeljeni u dvije grupe: oni s PWV-om < 10 m/s te oni s PWV-om > 10 m/s. Zastupljenost je bila podjednaka; njih 36 u grupi s urednim PWV-om te njih 39 u grupi s povišenim PWV-om. Što se spolova tiče, u grupi s povišenim PWV-om zastupljenost je bila podjednaka (53.8 % muškarci), dok je u grupi s urednim PWV-om bila nešto veća zastupljenost muškaraca (63.9 %). Medijan dobi u grupi s višim PWV-om iznosio je 75 godina [70,0, 81,0], dok je medijan trajanja HD-a bio 63 mjeseca [39,0, 112,0]. Vaskularni pristup putem TCVK-a imala su 34 pacijenta (45.3 %), od toga njih 23 (58,9 %) u grupi s višim PWV-om. Ostale detaljne demografske, biokemijske i kliničke karakteristike ispitanika, prema vrijednostima PWV-a prikazane su u Tablici 5.5.

Tablica 5.5. Demografske, biokemijske i kliničke karakteristike prema vrijednostima PWV-a.

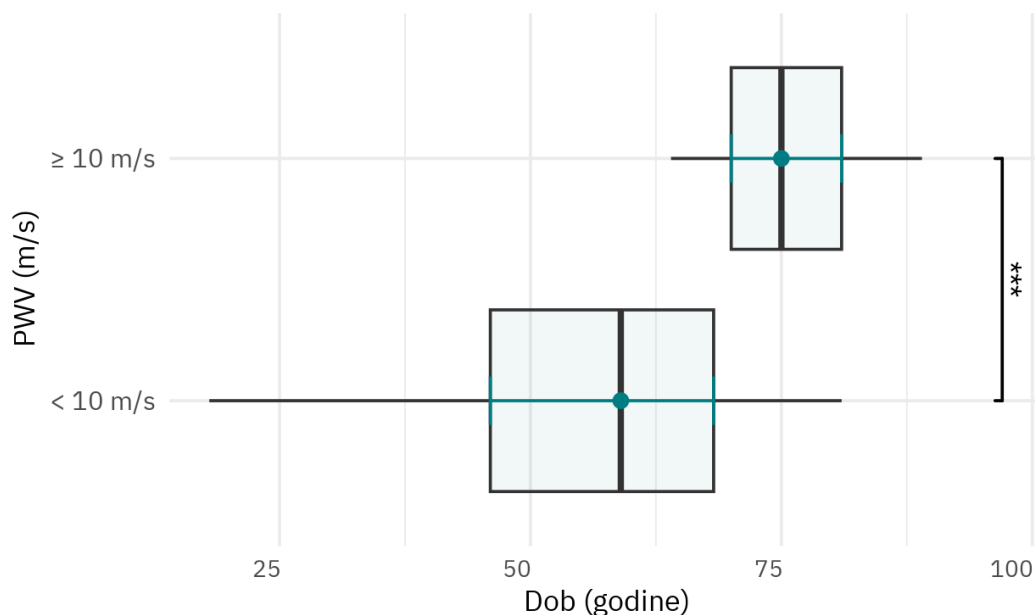
Parametar	PWV < 10 m/s	PWV ≥ 10 m/s	P
Broj pacijenata	36	39	
Spol - muški (%)	23 (63,9)	21 (53,8)	0,517
Spol - ženski	13	18	
Dob (godina)	59,00 [46,00, 68,25]	75,00 [70,00, 81,00]	<0,001*
Trajanje dijalize (mjeseci)	31,50 [8,00, 108,25]	63,00 [39,00, 112,00]	0,028*
Interdijalizni porast težine (kg)	2,39 (1,05)	2,46 (1,00)	0,768
Indeks tjelesne mase (BMI)	27,17 [24,37, 28,95]	26,44 [23,15, 30,25]	0,611
Vaskularni pristup – centralni venski kateter (CVK)	11 (30,6)	21 (53,8)	0,071
Vaskularni pristup – AVF	25 (69,4)	18 (46,2)	
Praćenje (mjeseci)	60,00 [40,25, 60,00]	24,00 [15,00, 40,50]	<0,001*

Doza dijalize (Kt/V)	1,61 (0,18)	1,68 (0,20)	0,083
Endokan (µg/L)	4,76 (0,75)	6,40 (0,69)	<0,001*
CRP (mg/L)	5,55 [3,78, 7,85]	15,80 [10,85, 24,00]	<0,001*
Albumin (g/L)	37,85 [36,30, 39,80]	37,00 [34,85, 38,45]	0,133
Glukoza (mmol/L)	4,80 [4,38, 5,10]	4,70 [4,30, 4,90]	0,225
HbA _{1c} (%)	4,80 [4,68, 5,10]	4,80 [4,40, 5,00]	0,214
Leukociti (×10 ⁹ /L)	7,03 (1,90)	7,04 (2,22)	0,982
Eritrociti (×10 ¹² /L)	3,78 (0,46)	3,60 (0,41)	0,080
Hemoglobin (g/L)	108,58 (10,52)	106,28 (8,18)	0,292
Trombociti (×10 ⁹ /L)	212,00 [178,00, 270,25]	180,00 [137,00, 248,00]	0,117
Ukupni proteini (g/L)	63,89 (4,23)	64,65 (4,33)	0,442
Željezo (µmol/L)	9,85 [7,97, 12,38]	9,10 [7,05, 12,20]	0,261
Feritin (ng/mL)	365,35 [227,93, 555,98]	392,30 [249,20, 539,00]	0,949
Ukupni kolesterol (mmol/L)	4,50 (1,17)	4,13 (1,19)	0,173
LDL kolesterol (mmol/L)	2,00 [1,84, 2,59]	1,96 [1,59, 2,28]	0,261
Paratireoidni hormon (PTH, pg/mL)	254,50 [127,50, 367,50]	342,00 [150,50, 412,50]	0,213
Kalcij (mmol/L)	2,22 [2,06, 2,34]	2,23 [2,08, 2,37]	0,376
Fosfor (mmol/L)	1,73 (0,40)	1,59 (0,41)	0,143
Terapija: RAAS inhibitor (%)	23 (63,9)	26 (66,7)	0,992
Terapija: Statin (%)	23 (63,9)	24 (61,5)	1,000
Terapija: Beta blokator (%)	23 (63,9)	20 (51,3)	0,385
Terapija: Blokator kalcijских kanala (%)	21 (58,3)	21 (53,8)	0,874
Uzrok KBB-a			0,018*
– Glomerulonefritis (GN)	11 (30,6)	10 (25,6)	
– Arterijska hipertenzija	7 (19,4)	14 (35,9)	
– Tubointersticijski nefritis	0 (0,0)	5 (12,8)	
– Ostali uzroci	7 (19,4)	5 (12,8)	
– Policistična bolest bubrega (PKD)	6 (16,7)	0 (0,0)	
– Kronični pijelonefritis (PN)	5 (13,9)	5 (12,8)	

Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. HD – hemodijaliza; AVF – arteriovenska fistula;

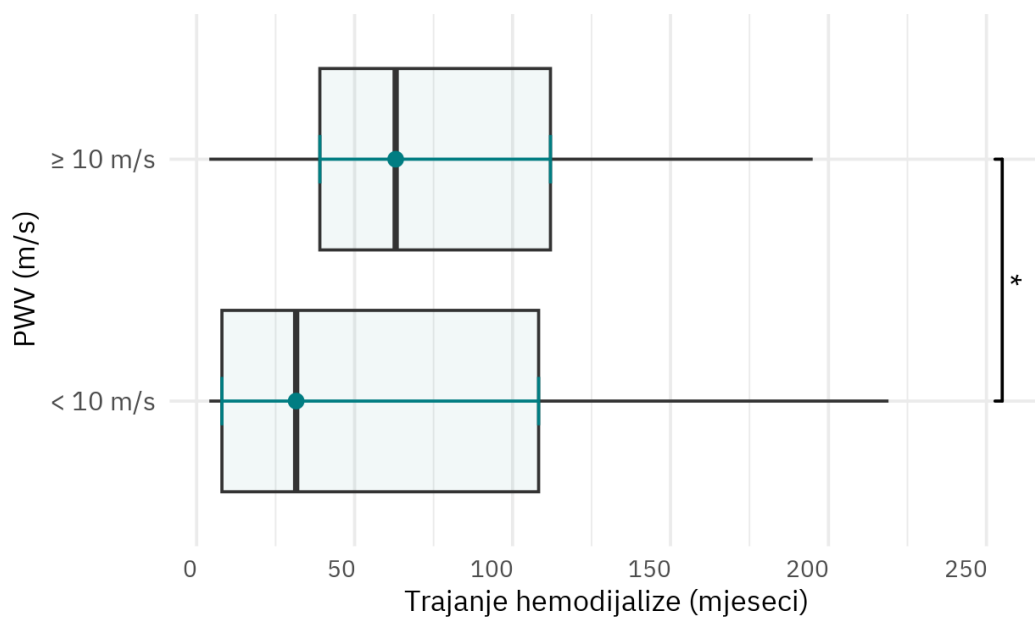
CRP – C reaktivni protein; LDL – eng. *low density cholesterol*, kolesterol male gustoće; PTH – paratireoidni hormon; RAAS – renin-angiotenzin-aldosteron sustav; KBB – kronična bubrežna bolest

Pacijenti u grupi s višim PWV-om su bili statistički značajno stariji 75,00 [70,00, 81,00] usporedno s 59,00 [46,00, 68,25] u grupi s urednim PWV-om što je prikazano na slici 5.8.



Slika 5.8. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o dobi.

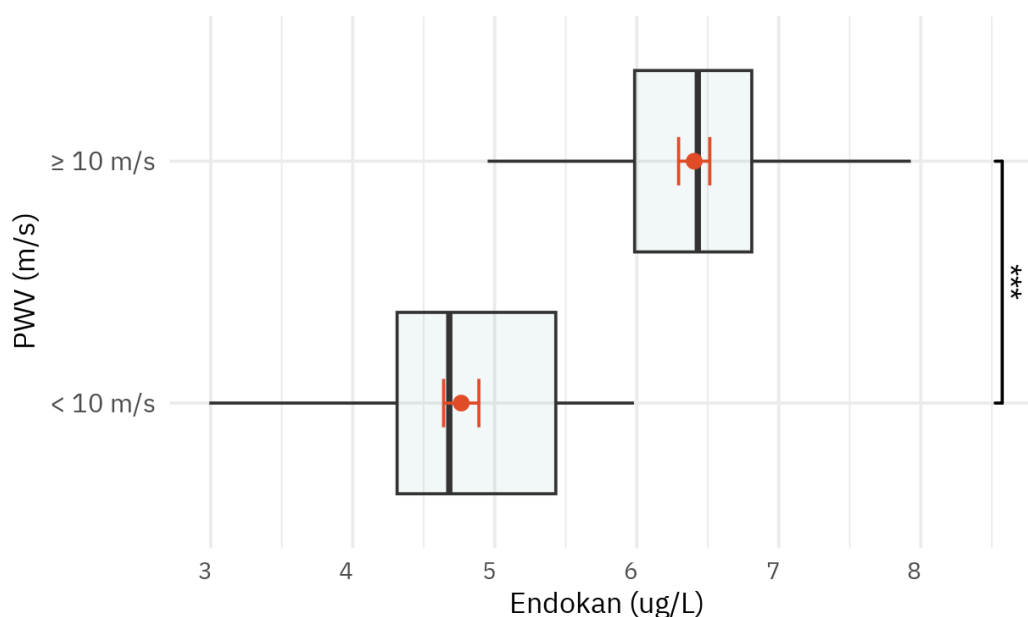
Osim toga, bili su i statistički značajno više mjeseci na HD-u 63,00 [39,00, 112,00] nasuprot grupe s urednim PWV-om 31,50 [8,00, 108,25] što je grafički prikazano na slici 5.9.



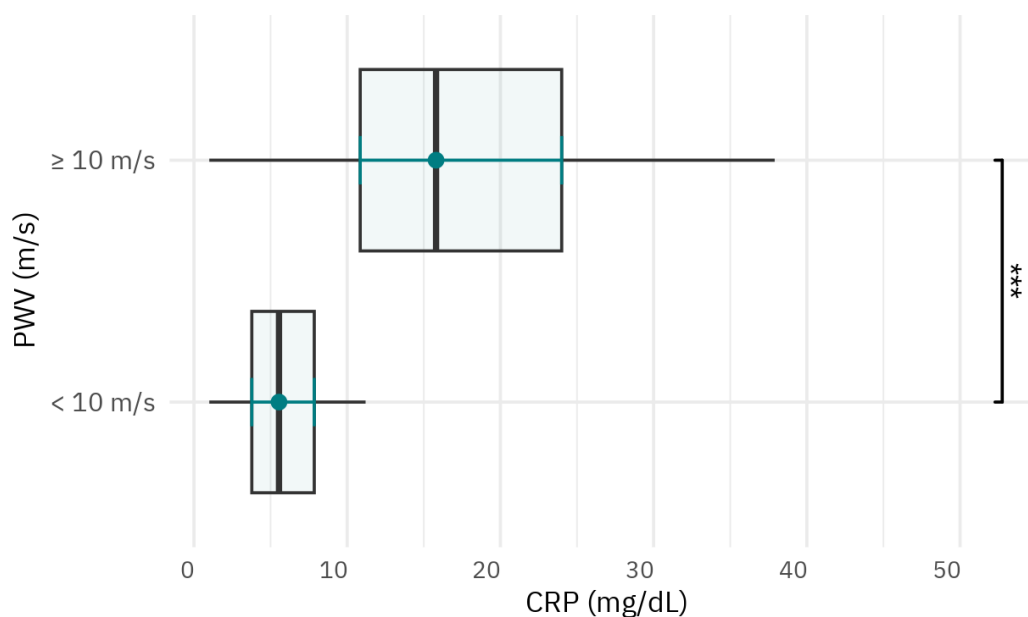
Slika 5.9. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o trajanju liječenja HD-om.

Što se tiče etiologije KBB-a, statistički je značajno napomenuti da su svi s dijagnozom ADPKD-a bili u grupi s urednim PWV-om (njih 6), a s dijagnozom tubulointersticijskog nefritisa u grupi s povišenim PWV-om (njih 5). Također, duplo više pacijenata kod kojih je AH uzrok KBB-a bilo je u grupi s višim PWV-om (njih 14, nasuprot 7). Ostali pokazatelji, poput spola, interdijaliznog porasta tjelesne mase, doze dijalize, vaskularnog pristupa te primjene antihipertenzivne i hipolipemijske terapije, nisu pokazali statistički značajnu povezanost s razinom PWV-a.

Što se biokemijskih parametara tiče, pacijenti s višim PWV-om imali su statistički značajno više vrijednosti endokana (6,40 (0,69) nasuprot 4,76 (0,75) i CRP-a 15,80 [10,85, 24,00] nasuprot 5,55 [3,78, 7,85]), što je grafički prikazano na slikama 5.10. i 5.11. Vrijednosti leukocita, eritrocita, trombocita, hemoglobina, željeza, feritina, albumina, kalcija, glukoze, HbA_{1c}, fosfora, PTH-a, ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola nisu pokazale statistički značajnu povezanost s mjerenim PWV-om. Detaljna analiza svih ispitivanih varijabli prikazana je u Tablici 5.5. uz oznake statističke značajnosti.



Slika 5.10. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o koncentraciji endokana.



Slika 5.11. Grafički prikaz ovisnosti PWV-a o CRP-u.

5.2.2. Parametri periferne i centralne hemodinamike

Periferni i centralni hemodinamski parametri ispitanika, razvrstani prema vrijednostima PWV-a, sažeti su u Tablici 5.6.

Tablica 5.6. Periferni i centralni parametri hemodinamike prema razini PWV-a.

Parametar	PWV < 10 m/s (n = 36)	PWV ≥ 10 m/s (n = 39)	P
Periferni SBP (mmHg)	143,50 [134,00, 153,00]	157,00 [140,50, 175,00]	0,002*
Periferni DBP (mmHg)	87,36 (12,68)	91,69 (16,19)	0,204
MAP (mmHg)	111,50 [98,75, 119,50]	119,00 [108,50, 136,50]	0,009*
PP (mmHg)	55,47 (12,33)	69,26 (19,03)	<0,001*
HR (otkucaja/min)	74,43 [69,98, 77,33]	70,00 [59,00, 75,50]	0,075
AIx	26,36 (10,03)	32,97 (14,84)	0,028*
Centralni SBP (mmHg)	130,00 [122,00, 141,00]	146,00 [128,00, 160,00]	0,006*
Centralni DBP (mmHg)	87,22 (13,76)	92,79 (16,83)	0,123
Centralni PP (mmHg)	42,50 [35,75, 48,25]	48,00 [43,50, 68,00]	0,004*

Periferni SBP nakon HD (mmHg)	130,00 [121,50, 142,25]	147,00 [129,50, 164,50]	0,014*
Periferni DBP nakon HD (mmHg)	83,94 (15,09)	85,97 (17,39)	0,592
MAP nakon HD (mmHg)	100,50 [92,00, 116,50]	116,00 [101,00, 125,00]	0,036*
PP nakon HD (mmHg)	52,50 [43,25, 58,00]	62,00 [48,50, 73,50]	0,015*
HR nakon HD (otkucaja/min)	81,91 (13,71)	76,00 (12,13)	0,051
AIx nakon HD	22,50 [12,75, 34,75]	28,00 [17,00, 42,50]	0,072
Centralni SBP nakon HD (mmHg)	125,03 (17,33)	134,67 (21,92)	0,039*
Centralni DBP nakon HD (mmHg)	84,42 (16,50)	87,49 (17,88)	0,443
Centralni PP nakon HD (mmHg)	40,00 [30,75, 51,00]	47,00 [33,00, 53,00]	0,179

Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. PWV – eng. *pulse wave velocity*, brzina pulsno vala; HD – hemodijaliza; SBP – eng. *systolic blood pressure*, sistolički krvni tlak; DBP – eng. *diastolic blood pressure*, dijastolički krvni tlak; MAP – eng. *mean arterial pressure*, srednji arterijski tlak; PP – eng. *pulse pressure*, tlak pulsa; HR – eng. *heart rate*, srčani otkucaji; AIx – eng. *augmentation index*, indeks augmentacije;

U mjerenjima prije HD-a, više vrijednosti koje su statistički bile značajne ovisno o PWV-u zabilježene su za periferni SBP, MAP, PP, AIx, centralni aortni SBP i centralni PP. U mjerenjima nakon HD-a, svi gore spomenuti parametri zadržali su statističku značajnost, osim centralnog PP-a i AIx-a. Detaljna analiza svih ispitivanih varijabli dostupna je u tablici 5.6. uz označene statistički značajne razlike.

5.2.3. Ishodi i preživljenje

Ukupno prosječno razdoblje praćenja iznosilo je 40 mjeseci [18,5–60]. Tijekom razdoblja praćenja zabilježena su ukupno 32 KVD-a, od kojih se 25 (64,1 %) dogodilo u grupi s višim PWV-om, što je bilo statistički značajno.

Od ukupno 75 pacijenata uključenih na početku studije, 46 (61,33 %) je preminulo; među njima je 29 (63,04 %) umrlo zbog KVD-a, dok je 17 (36,96 %) umrlo od ostalih uzroka. Među preživjelim, 25 od 29 (86,21 %) nalazilo se u grupi s nižim PWV-om, dok je 25 od 29 (86,21 %) onih koji su umrli zbog KVD-a bilo u grupi s višim PWV-om. Također, od

ukupno 36 KVD-a, njih 25 (78,13 %) bilo je u grupi s višim PWV-om, što je također pokazalo statističku značajnost. Detaljna analiza svih ispitanih varijabli prikazana je u tablici 5.7. uz označene statistički značajne razlike.

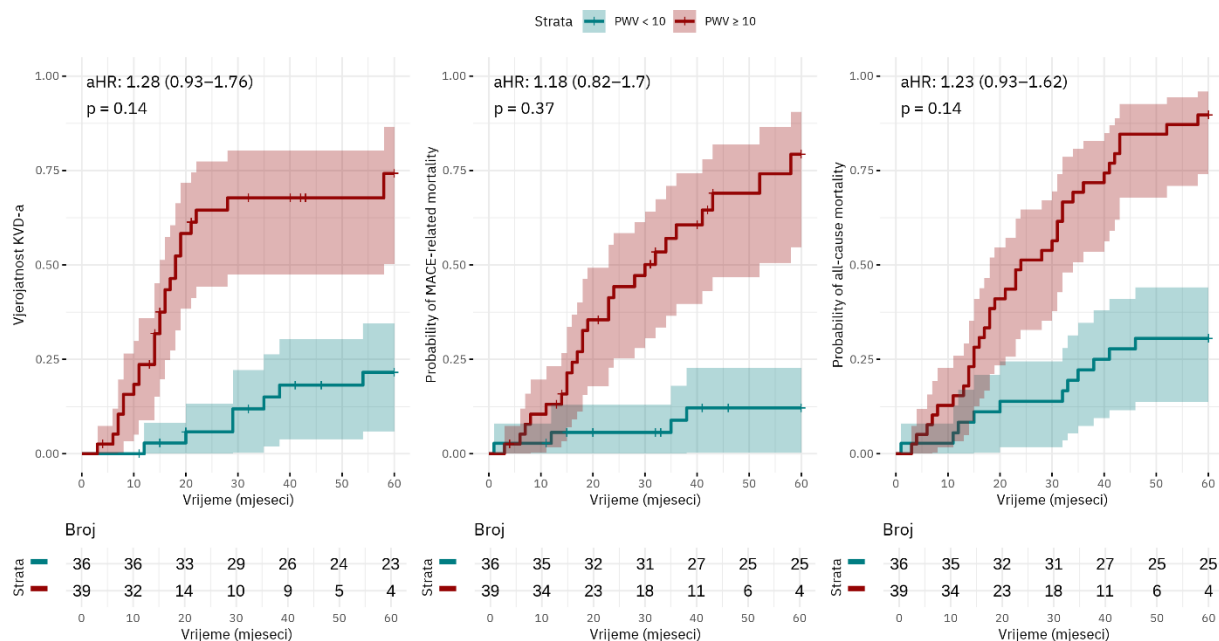
Tablica 5.7. Preživljenje i ishodi ovisno o PWV-u.

Ishodi	PWV < 10 m/s	PWV ≥ 10 m/s	P
Broj pacijenata	36	39	
KVD događaji (%)	7 (19,4)	25 (64,1)	<0,001*
Uzrok smrti:			
– Neprimjenjivo	25 (69,4)	4 (10,3)	<0,001*
(preživjeli sudionici) (%)			
– KVD (%)	4 (11,1)	25 (64,1)	
– Ostali uzroci (%)	7 (19,4)	10 (25,6)	

Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilniraspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. KVD – kardiovaskularni događaj

5.2.4. Multivarijabilne analize i regresijski modeli

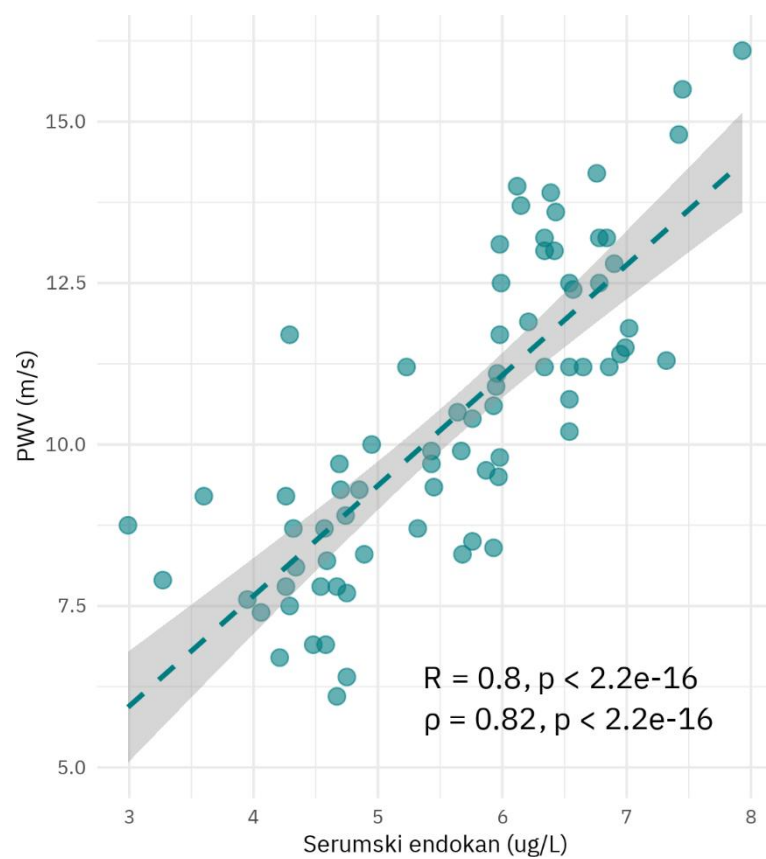
Analiza vremena do događaja provedena je pomoću Kaplan–Meierovih krivulja preživljenja i multivarijatnih Coxovih proporcionalnih hazard modela, prilagođenih za unaprijed definirane potencijalne zbunjujuće čimbenike (dob, spol, trajanje HD-a, koncentraciju albumina, BMI, centralni SBP i Alx), a rezultati su prikazani na Slici 5.12.



1. graf – vjerojatnost KVD-a; 2. graf – vjerojatnost smrtnosti od KVD-a; 3. graf – vjerojatnost ukupne smrtnosti ovisno o razini PWV-a

Slika 5.12. Multivarijabilna analiza i regresijski modeli ovisno o PWV-u.

Jedna unaprijed odabrana varijabla – endokan – isključena je iz konačnog multivarijatnog modela zbog vrlo jake kolinearnosti s PWV-om (Spearmanov rho = 0,82, $p < 0,0001$) kako bi se očuvala stabilnost i interpretabilnost modela što je prikazano na slici 5.13. Povišeni PWV u daljnjoj multivarijatnoj analizi nakon prilagodbe za navedene zbunjujuće čimbenike nije pokazao statistički značajnu prediktivnu vrijednost za KVD-e, smrtnost od KVD-a te ukupnu smrtnost. Detaljni rezultati multivarijatne analize su prikazani u tablici 5.8.



Slika 5.13. Kolinearnost između endokana i PWV-a.

Tablica 5.8. Detaljni rezultati Coxove multivarijatne analize ovisno o PWV-u.

Ishod	KVD		Smrtnost od KVD-a		Ukupna smrtnost	
<i>Varijabla</i>	<i>HR (95 % CI)</i>	<i>P</i>	<i>HR (95 % CI)</i>	<i>P</i>	<i>HR (95 % CI)</i>	<i>P</i>
PWV	1,28 (0,93–1,76)	0,1380	1,18 (0,82–1,70)	0,3680	1,23 (0,93–1,62)	0,1440
Dob	1,05 (0,99–1,11)	0,1380	1,05 (0,98–1,12)	0,1690	1,04 (0,99–1,09)	0,1380
Spol (muškarci)	2,03 (0,91–4,56)	0,0846	1,30 (0,58–2,91)	0,5320	1,55 (0,81–2,98)	0,1840
Trajanje HD (mj.)	1,01 (1,00–1,01)	0,0399	1,01 (1,00–1,01)	0,1690	1,01 (1,00–1,01)	0,0044
Albumin	0,98 (0,86–1,12)	0,7910	1,03 (0,89–1,19)	0,7050	0,97 (0,87–1,09)	0,6570
BMI	1,00 (0,93–1,08)	0,9280	0,99 (0,92–1,07)	0,8480	0,99 (0,93–1,05)	0,6350
Centralni SBP	1,00 (0,98–1,01)	0,7110	1,00 (0,98–1,02)	0,6910	1,00 (0,99–1,02)	0,8130
Alx	1,02 (1,00–1,05)	0,0763	1,04 (1,01–1,07)	0,0135	1,01 (0,99–1,03)	0,2700

Za normalnu distribuciju varijabli rezultati su izraženi kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao medijan [interkvartilni raspon] za varijable koje nisu normalno distribuirane. PWV – eng. *pulse wave velocity*, brzina pusnog vala; HD – hemodijaliza; BMI – eng. *body mass index*, indeks tjelesne mase; SBP – eng. *systolic blood pressure*, sistolički krvni tlak; Alx – eng. *augmentation index*, indeks augmentacije

6. RASPRAVA

Najvažniji rezultati naše studije ukazuju na to da su pacijenti s višim razinama endokana u serumu i povišenim PWV-om imali povećani rizik za pojavu KVD-a, smrtnosti povezane s KVD-om te ukupnom smrtnosti, što je za endokan pokazano i nakon prilagodbe za unaprijed definirane zbunjujuće čimbenike, pri čemu je tercil s najvišim vrijednostima endokana imao najkraće preživljenje bez KVD-a u populaciji bolesnika bez ŠB-a i ranijih KVD-a.

Naša se studija razlikuje od prethodnih istraživanja po tome što su iz nje bili isključeni pacijenti sa ŠB-om te oni s anamnezom KVD-a prije uključivanja u istraživanje, čime je osigurana jedinstvena istraživačka populacija. Budući da su ranija istraživanja pokazala značajan utjecaj ŠB-a i prethodnih KVD-a na koncentraciju endokana, PWV-a i budućih kardiovaskularnih ishoda, naši rezultati dodatno potvrđuju važnost PWV-a, a posebno endokana kao potencijalnog biomarkera koji bi se mogao koristiti kao neovisan čimbenik kardiovaskularnog rizika kod bolesnika na HD-u.

Druga su istraživanja također ispitala utjecaj endokana na pojavu KVD-a i preživljenje u populacijama bolesnika s KBB-om, na HD-u te na PD-u. Nekoliko studija u populacijama s KBB-om i PD-om pokazalo je da je serumski endokan povezan s preživljenjem te s pojavom smrtonosnih i nesmrtonosnih KVD-a (83,93). U populaciji bolesnika na HD-u, Kim i sur. ispitali su potencijalnu prediktivnu ulogu endokana za kardiovaskularni rizik kod bolesnika na HD-u. Skupina s višim vrijednostima endokana imala je češće KVD-e, a endokan se pokazao kao neovisan prediktor KVD-a u toj populaciji (95). Lin i suradnici uspostavili su korelaciju između viših vrijednosti endokana i smrtnosti od svih uzroka kod bolesnika na HD-u (66). Važno je istaknuti da su studije Kim i sur. te Lin i sur. uključivale ispitanike sa ŠB-om i s prethodnim KVD-ima, koji su sami po sebi neovisni čimbenici rizika za naknadne KVD-e.

Kod KBB-a, tradicionalni čimbenici rizika ne mogu u potpunosti objasniti visoku prevalenciju KVB-a (78). Krutost arterija, posebice aorte, predstavlja povećano tlačno opterećenje srca i dokazani je mehanički biomarker za kardiovaskularni morbiditet i mortalitet u bolesnika s KBB-om, neovisno jesu li već na HD-u ili nisu (134,148). Tijekom posljednja tri desetljeća, brojna su istraživanja analizirala i pokazala povezanost povišenih vrijednosti PWV-a sa smrtnošću u bolesnika sa ZSKBB-om (133,145,146,148,166,167).

Zbog toga se sve više istražuju čimbenici povezani s endotelnom disfunkcijom (57). Nekoliko studija pokazalo je da je endokan uključen u proces endotelne disfunkcije i upale te da bi mogao predstavljati neovisan čimbenik rizika za nepovoljne kliničke ishode u kontekstu KVB-a i KBB-a. (94,95,114,184).

Naše istraživanje pokazalo je da su bolesnici s višim koncentracijama endokana i većim vrijednostima PWV-a bili stariji. S obzirom na poznate fiziološke promjene povezane sa starenjem, očekivano je da su arterije kruće, a endotelna disfunkcija izraženija u starijoj populaciji. Bolesnici koji su bili duže vrijeme na HD-u imali su statistički značajno viši PWV, što je bilo i očekivano, jer su kod njih vaskularne kalcifikacije izraženije, a time i sama krutost arterija. Iako su vrijednosti endokana bile više što su bolesnici bili duže na HD-u, statistički nije bilo značajno. Teško je reći je li uzrok tome što smo endokan promatrali kroz tercile, a PWV kroz dvije grupe, ili to da sama duljina trajanja liječenja HD-om više utječu na samu krutost arterija, a ne na cjelokupnu endotelnu disfunkciju. Inače, kod pacijenata na HD-u dolazi do izraženije kronične upale, aktivacije RAAS-a, nakupljanja vazokonstriktora, kao što je ET-1, uremijskih toksina, kao što je ADMA, te poremećaja koštano-mineralnog metabolizma u vidu CKD-MBD-a, što sve skupa dodatno ubrzava tzv. vaskularno starenje, krutost arterija i endotelnu disfunkciju (12).

Uz već poznate kardiovaskularne rizične čimbenike koji se često opažaju kod bolesnika na HD-u, poput dislipidemije, AH-a ili ŠB-a, dodatnu ulogu ima i aktivacija imunološkog sustava, koja uključuje i urođeni i stečeni imunosni odgovor, a sve to doprinosi održavanju stanja kronične sustavne upale (185). Vaskularna upala važan je proces u razvoju KVB-a, a bolesnici s KBB-om predstavljaju skupinu s povećanim rizikom za KVB. Postoji više mogućih objašnjenja za povezanost između KBB-a i povećanog rizika od smrtnosti i KVB-a, čemu svakako doprinosi smanjena bubrežna funkcija koja je povezana, između ostalog, s povišenim razinama upalnih čimbenika i endotelnom disfunkcijom (91). Početni korak u vaskularnoj upali koja dovodi do aterogeneze jest adhezijska kaskada koja uključuje vezivanje, prijanjanje i naknadnu transmigraciju leukocita kroz endotel. Regrutaciju i nakupljanje leukocita na endotel posreduje pojačana ekspresija adhezijskih molekula VCAM-1 i ICAM-1 (186). Nedavno je pokazano da su serumske razine ovih topljivih adhezijskih molekula povišene u bolesnika s KBB-om, vjerojatno zbog aktivacije NF- κ B-a u vaskularnim endotelijalnim stanicama posredovane reaktivnim kisikovim vrstama. Endokan utječe na interakciju između ICAM-1 i LFA-1 te može biti uključen u regulaciju

ekstravazacije leukocita na mjestima upale (39). S druge strane, sam HD doprinosi morbiditetu i mortalitetu ovih bolesnika, izazivajući sustavno stresno stanje koje proizlazi iz hemodinamske regulacije (gubitak težine, ultrafiltracija), intermitentnog rasporeda liječenja, protoka otopljenih tvari, elektrolitskih pomaka te interakcije između krvi i izvantjelesnog kruga (187). Tijekom svake hemodijalize, krv pacijenta napušta fiziološku zaštitu endotelnih stanica u krvnim žilama i dolazi u kontakt s izvantjelesnim krugom, pri čemu dolazi do fizičkih i kemijskih podražaja. Ti upalni podražaji i oksidativni stres započinju već samom punkcijom AVF-a, a zatim se održavaju kroz interakcije između krvi i membrane izvantjelesnog kruga HD-a, s posljedicama na sustav koagulacije i imunološki sustav, doprinoseći održavanju kronične upale (188). U posljednjim desetljećima, poboljšanje biokompatibilnosti membrana bio je jedan od glavnih ciljeva bioinženjeringa primijenjenog u području HD-a. Mehanizmi koji dovode do reakcije inkompatibilnosti još su djelomično nejasni, a uključuju sustav koagulacije, imunološki sustav te put komplementa (189). Naša je studija pokazala da su pacijenti s višim PWV-om te višim endokanom imali viši CRP, kao marker upale, te smo još jednom istaknuli važnost interakcije između krutosti arterija, endotelne disfunkcije i kronične upale. Slični su rezultati zabilježeni i u ranijim istraživanjima, i to u populacijama bolesnika s KBB-om koji još nisu započeli liječenje HD-om te u onih na PD-u. Tako su Yilmaz i suradnici ispitali razine endokana u plazmi kod bolesnika s KBB-om stadija 1–5 koji nisu bili na dijalizi (n = 215), u kontekstu upalnih markera, endotelne disfunkcije, incidencije KVD-a i ukupnog preživljenja. Utvrđeno je da koncentracija endokana korelira s eGFR-om, različitim markerima upale (pentraksin 3 i hs-CRP), FMD-om te CIMT-om (93). Pawlak i suradnici proveli su presječno istraživanje u bolesnika s KBB-om koji nisu bili na dijalizi (n = 53), s KVB-om i bez KVB-a, s ciljem procjene razina endokana u plazmi, sICAM-1 i sVCAM-1, upalnih markera (hs-CRP-a, IL-6 i TNF- α) te njihovih međusobnih odnosa. U navedenom istraživanju autori su utvrdili kako su razine endokana u plazmi, sICAM-1, sVCAM-1 i hs-CRP-a bile statistički značajno više u bolesnika s KBB-om u usporedbi s kontrolnom skupinom, a dodatno povišene u onih bolesnika s KBB-om koji su imali i prisutnu KVB u odnosu na one bez nje (94).

Oni s višim koncentracijama endokana imali su i niže koncentracije serumskog albumina. U našem uzorku, statistički značajan pad koncentracije albumina zabilježen je već u drugom tercilu koncentracije endokana, gdje je prosječna koncentracija albumina bila 36 g/L, što upućuje na to da pacijenti relativno brzo ulaze u kataboličko stanje koje dovodi

do malnutricije i skupa s kroničnom upalom povećava morbiditet bolesnika na HD-u. Poon i suradnici ispitali su povezanost serumske koncentracije endokana s kliničkim ishodom u bolesnika na PD-u ($n = 193$). Rezultati su pokazali kako su ispitanici u trećem tercilu koncentracije endokana imali niže vrijednosti serumskog albumina, viši cf-PWV i povišene koncentracije CRP-a u odnosu na bolesnike iz prvog i drugog tercila. U skladu s našim nalazima, autori su također zabilježili izraženu korelaciju između koncentracija endokana i CRP-a, što upućuje na moguću ulogu endokana u sustavnoj upalnoj aktivnosti. Ovu hipotezu dodatno potkrepljuju nedavni podatci iz literature, koji sugeriraju da endokan djelomično sudjeluje u modulaciji dijapeze leukocita (83,93,95). Kao i u našoj studiji, nemoguće je utvrditi da li je endokan uzrok, posljedica ili slučajni popratni čimbenik upale. Zbog ograničenja našeg istraživačkog dizajna i mjerenja u jednoj vremenskoj točki, nismo mogli odrediti ulogu ponovljenih serijskih mjerenja razine endokana i PWV-a u praćenju sustavne upale.

Što se tiče etiologije KBB-a, u grupi s višim PWV-om bilo je dvostruko više onih kojima se kao uzrok KBB-a vodi AH te svi oni pacijenti s dijagnozom tubulointeristijskog nefritisa, nasuprot onih s ADPKD-om, koji su svi bili u grupi s nižim PWV-om. Ovi rezultati se ne mogu tumačiti s potpunom sigurnošću, zato što se svim pacijentima nisu radile biopsije bubrega koje bi onda sa stopostotnom sigurnošću mogle rastumačiti etiologiju KBB-a. Za pretpostaviti je da su bolesnici kojima je AH uzrok KBB-a bili vrlo vjerojatno loše regulirani te da su samim time imali i viši PWV. Za tubulointeristijski nefritis nema direktnih poveznica kako može uzrokovati povišeni PWV, osim što dovodi do KBB-a koji onda sam po sebi povećava krutost arterija. U ADPKD-u je glavni komorbiditet AH-a te je podatak da su svi s ADPKD-om bili u grupi s nižim PWV-om pomalo iznenađujući, a razlog za to najvjerojatnije je premali uzorak pacijenata.

U skupini bolesnika s višim koncentracijama endokana i višim PWV-om zabilježena je češća upotreba TCVK-a kao vaskularnog pristupa za HD. Statistički značajna razlika uočena je u prvom tercilu endokana, gdje su prevladavale AVF-e. Bolesnici s AVF-om imali su niže vrijednosti PWV-a, odnosno manju arterijsku krutost, što bi moglo doprinijeti nižim koncentracijama endokana u serumu. U dostupnoj literaturi nismo pronašli podatke koji bi razmatrali povezanost vrste vaskularnog pristupa s razinama endokana i endotelnom disfunkcijom. Neočekivano visoka prevalencija TCVK-a u ovoj kohorti (oko 45 %) vjerojatno odražava čimbenike specifične za ustanovu i populaciju, uključujući kasno

upućivanje bolesnika nefrolozima. Naime, bolesnici koji započinju dijalizu bez prethodnog nefrološkog praćenja, često je započinju hitnim postupcima putem vaskularnog katetera zbog nepostojanja na vrijeme konstruiranog AVF-a ili grafta. Drugi mogući razlog jest starija životna dob bolesnika, ograničena očekivana životna dob ili nepovoljni uvjeti za kreiranje vaskularnog pristupa, zbog čega se u takvih bolesnika često odustaje od konstrukcije AVF-a te se HD nastavlja putem TCVK-a. U našem istraživanju jasno je vidljivo da su bolesnici u drugom i trećem tercilu endokana te oni s višim PWV-om (gdje je prevalencija TCVK-a najizraženija), statistički značajno stariji u usporedbi s bolesnicima u prvom tercilu te s urednim PWV-om.

Među parametrima periferne i centralne hemodinamike, arterijska krutost predstavlja ključan čimbenik u progresiji kardiovaskularnih i bubrežnih bolesti. PWV danas se smatra pouzdanim pokazateljem arterijske krutosti te neovisnim prediktorom kardiovaskularne i ukupne smrtnosti u različitim populacijama, uključujući i bolesnike sa ZSKBB-om (11,132,136). U našem istraživanju pokazali smo da se vrijednosti PWV-a povećavaju kroz tercile koncentracije endokana, što je u skladu s poznatim patofiziološkim poveznicama, prema kojima endotelna disfunkcija doprinosi razvoju arterijske krutosti – i obrnuto. Slični su rezultati zabilježeni i u drugim studijama koje su uključivale bolesnike s KBB-om, kao i one na PD-u i HD-u (83,93,95). Poon i suradnici pokazali su da su ispitanici s višom razinom endokana imala i viši PWV, što je bilo povezano s preopterećenjem volumenom, KVD-ima, češćim hospitalizacijama te smrtnošću u populaciji bolesnika koji su na PD-u. Budući da je ranije pokazano kako endokan utječe na CIMT i FMD (93,190), nije iznenađujuće da se slična povezanost uočava i s arterijskom krutošću. Ranija istraživanja Blachera i sur. (132,133), Panniera i sur. (148), Shojija i sur. (167) te Zoungasa i sur. (168) već su pokazala da je cf-PWV prediktor smrtnosti u bolesnika na kroničnom HD-u. Važno je istaknuti da je prosječna dob ispitanika u tim studijama iznosila između 50 i 55 godina, što je znatno mlađa populacija u usporedbi s današnjim prosječnim bolesnicima na HD-u, koji najčešće pripadaju dobnoj skupini od 65 do 75 godina (169). U studiji Fortiera i suradnika, koja je uključivala 310 odraslih bolesnika na HD-u, neinvazivna mjerenja cf-PWV-a i cr-PWV-a (eng. *carotide-radial* PWV) u ordinacijskim uvjetima identificirana su kao prediktori smrtnosti u univarijatnoj analizi, ali nisu se pokazala neovisnima o drugim čimbenicima rizika (166).

U našem istraživanju, parametre periferne i centralne hemodinamike mjerili smo i prije i nakon HD-a. Prije HD-a, 36 bolesnika imalo je $PWV < 10$ m/s ($8,40 \pm 1,04$), a 39 bolesnika $PWV > 10$ m/s ($12,28 \pm 1,48$). Isti broj bolesnika zadržan je i u mjerenjima nakon HD-a, s nešto nižim srednjim vrijednostima ($8,15 \pm 1,28$ naspram $11,83 \pm 1,43$) koje su zadržale statističku povezanost s koncentracijama endokana. Prema dostupnim saznanjima, granična vrijednost za PWV definirana je isključivo za opću populaciju. Van Bortel i suradnici izračunali su graničnu vrijednost od 9,6 m/s za cf – PWV te predložili njezino zaokruživanje na 10 m/s (191). Poznato je da HD uzrokuje značajne promjene u volumnom opterećenju i krvnom tlaku, kao posljedicu ultrafiltracije (170). U opservacijskim istraživanjima PWV se pokazuje relativno stabilnim tijekom dana bez HD-a (171); međutim, na individualnoj razini PWV pokazuje cikličke promjene tijekom ciklusa hemodijalize, uključujući sniženje vrijednosti neposredno nakon HD-a (172), što smo u našoj studiji i potvrdili. Više vrijednosti PWV-a uočene su osobito nakon trodnevne interdijalizne stanke, u usporedbi s dvodnevnom (171). Smanjena smrtnost zabilježena je kod bolesnika na kućnom svakodnevnom HD-u u usporedbi s intermitentnim satelitskim HD-om u centrima, a svakodnevno doziranje dijalize povezano je sa smanjenjem PWV-a (172).

Iako ukupni volumen tekućine, a posebno interdijalizni donos, utječu na hemodinamske parametre, u našoj studiji u skupini s višim PWV-om interdijalizno povećanje tjelesne mase bilo je blago više, ali statistički neznajno ($2,39 \pm 1,05$ vs $2,46 \pm 1,00$). Ta skupina ispitanika bila je starija i ukupno duže vremena liječena HD-om, a imali su i statistički značajno više vrijednosti perifernog i centralnog SBP-a, MAP-a, PP-a i Alx-a, kako prije, tako i nakon HD-a.

Uzimajući u obzir tercile koncentracije endokana, pokazali smo da su jedino PWV i Alx-e zadržali statističku značajnost u mjerenjima i prije i nakon HD-a. Ostali statistički značajni periferni i centralni hemodinamski parametri – poput perifernog SBP-a, MAP-a, PP-a, centralnog aortnog SBP-a i centralnog PP-a – bili su značajni isključivo u mjerenjima provedenim prije HD-a. Što se tiče direktne usporedbe PWV-a s ostalim hemodinamskim parametrima u mjerenjima prije HD-a, slično kao i kod endokana, statistička značajnost pokazana je s perifernim SBP-om, MAP-om, PP-om, Alx-om, centralnim SBP-om i centralnim PP-om, ali se ona zadržala i u mjerenjima nakon HD-a, i to za periferni SBP, centralni SBP, PP te MAP. PWV validirani je pokazatelj arterijske krutosti i usko je povezan

s perifernim i centralnim hemodinamskim parametrima. Ti odnosi naglašavaju sustavni učinak krutosti arterija na vaskularnu funkciju i kardiovaskularni rizik (11,136). Više vrijednosti PWV-a najčešće su povezane s povišenim perifernim SBP-om. To je posljedica činjenice da krute arterije brže prenose tlačni val, čime dolazi do porasta sistoličkog tlaka u perifernim žilama poput brahijalne arterije. Povezanost PWV-a s centralnim SBP-om još je izraženija. S porastom krutosti aorte, smanjuje se njezina sposobnost da amortizira sistolički tlak, što rezultira porastom centralnog SBP-a. Dokazano je da je povišeni centralni SBP snažniji prediktor KVD-a od perifernog SBP-a (137). Trajno povišen MAP doprinosi vaskularnom remodeliranju i arterijskoj krutosti. Povećan PWV odražava kumulativno opterećenje arterijskog tlaka, što potvrđuje međusobnu povezanost između MAP-a i PWV-a (134). Osim toga, PWV pozitivno korelira s perifernim i centralnim PP-om. Kako arterije postaju krutije, sistolička komponenta tlaka raste, dok dijastolička opada, što dovodi do širenja pulsog tlaka – karakterističnog znaka vaskularnog starenja koji se danas i smatra jednim od parametara oštećenja ciljnih organa (145,148). Također, PWV i Alx pozitivno su povezani. Viši PWV uzrokuje raniji povrat reflektiranog tlačnog vala, čime dolazi do povećanja sistoličke augmentacije i viših vrijednosti Alx-a. Ova je povezanost osobito izražena u starijih osoba i onih s uznapredovalom arterijskom krutosti. (148). Ovakav integrirani prikaz potvrđuje važnost PWV-a kao dijagnostičkog i prognostičkog alata u procjeni kardiovaskularnog rizika, posebice u populacijama s KBB-om ili bolesnika na HD-u, gdje arterijska krutost ima jednu od ključnih patofizioloških uloga.

U bolesnika na HD-u bez ŠB-a patofiziološki mehanizmi koji vode do KVD-a vjerojatno su u manjoj mjeri određeni metaboličkim čimbenicima, a u većoj mjeri ovise o endotelnoj disfunkciji, upali i arterijskoj krutosti – upravo onim putovima u kojima se pretpostavlja da endokan uz PWV ima značajnu ulogu. Endokan odražava aktivaciju endotelnih stanica, što predstavlja središnju komponentu u razvoju ateroskleroze, arterijske krutosti i vaskularne kalcifikacije – pojava koje su učestale u populacijama s KBB-om i na HD-u (95). Kod nedijabetičnih bolesnika, gdje je glikemijsko oštećenje endotela odsutno, povišena razina endokana može izravnije odražavati nemetaboličko oštećenje endotela (npr. uzrokovano uremijom, oksidativnim stresom, preopterećenjem tekućinom ili drugim mehanizmima). Endokan regulira prijanjanje i transmigraciju leukocita, potičući vaskularnu upalu, što je poznati čimbenik destabilizacije aterosklerotskog plaka i nastanak KVD-a. Ovaj učinak neovisan je o dijabetičkom statusu, a može biti osobito izražen kod bolesnika na HD-u s visokim upalnim opterećenjem (93). Studije ukazuju na

povezanost između povišenih koncentracija endokana i povišenog PWV-a, koja je pokazatelj arterijske krutosti i snažan neovisan prediktor kardiovaskularne smrtnosti u bolesnika na HD-u (192). Kod nedijabetičnih bolesnika na HD-u, povišeni PWV i endokan mogli bi sinergistički identificirati vaskularne fenotipove visokog rizika, čak i u odsutnosti tradicionalnih čimbenika rizika poput hiperglikemije.

U istraživanoj populaciji u periodu praćenja umrlo je ukupno 46 ispitanika, što je oko 61 %, a upravo među tom populacijom bili su oni ispitanici s najvišim PWV-om i trećim tercilom koncentracije endokana. U univarijantnoj analizi pokazali smo statistički značajnu povezanost između koncentracije endokana i PWV-a s kardiovaskularnim ishodima i smrtnošću. Od 32 KVD-a, njih 25 bilo je u grupi s višim PWV-om, a u istoj grupi bilo je i 25 umrlih od KVD-a od ukupno 29 umrlih od KVD-a. Međutim, u multivarijantnom modelu koji je uključivao obje varijable, značajnost je ostala prisutna samo za endokan, dok je povezanost između PWV-a i kardiovaskularnih ishoda izgubila statističku značajnost. S obzirom na visoki stupanj kolinearnosti i njezinu statističku značajnost između endokana i PWV-a (Pearsonov $r \approx 0,82$), pretpostavljamo da se radi o preklapanju u prediktivnoj vrijednosti ovih biomarkera, gdje endokan zadržava neovisnu prognostičku vrijednost. PWV u tom kontekstu ne donosi dodatnu informaciju o ishodu izvan one koju već objašnjava endokan, što ukazuje na moguću medijacijsku ili zajedničku fiziopatološku osnovu. PWV može predvidjeti endokan, ali za procjenu šansi za nastanak KVD-a ili za preživljenje nije podjednako pouzdan.

Klinička primjena endokana mogla bi obuhvatiti više područja. Kao marker endotelne aktivacije i vaskularne upale, endokan bi mogao poslužiti za rano otkrivanje subkliničkog oštećenja krvnih žila u visokorizičnim skupinama, poput bolesnika s KBB-om, ZSKBB-om, ŠB-om i AH-om. U bolesnika na kroničnom programu HD-a, gdje tradicionalni čimbenici rizika često pokazuju nisku osjetljivost, endokan može pomoći u procjeni rizika i longitudinalnom praćenju, pružajući uvid u kontinuirano vaskularno oštećenje. S obzirom na njegovu povezanost s arterijskom krutošću, endokan bi se također mogao koristiti kao komplementarni alat uz PWV u procjeni vaskularnog starenja. Njegova osjetljivost na proupalne podražaje dodatno podupire njegovu potencijalnu ulogu u praćenju sustavne upale u populacijama s KBB-om, ZSKBB-om ili autoimunim bolestima, gdje kronična upala značajno pridonosi progresiji bolesti i nepovoljnim kardiovaskularnim ishodima. Wu i sur. zaključili su da je, kod bolesnika na kroničnom HD-u, razina endokana u serumu pozitivno

korelirala s krutosti aorte mjerene PWV-om i to s izraženom prediktivnom vrijednošću (192).

Važno je spomenuti i pregledni rad Samouilidou i sur. te metaanalizu Khalaji i sur., koji ukazuju na to da novija istraživanja sugeriraju kako bi endokan mogao biti prediktor KVD-a te ukupne smrtnosti u bolesnika s KBB-om. Razine endokana bile su više u bolesnika s KBB-om u usporedbi sa zdravim ispitanicima, unatoč visokom stupnju heterogenosti među studijama, a endokan je potvrđen i kao negativan prognostički čimbenik u bolesnika na HD-u, PD-u, pa čak i nakon TB-a (57,193).

Naše istraživanje ima nekoliko ograničenja, usporedivih s onima u sličnim studijama iz ovog područja. Budući da je provedeno u jednom kliničkom centru, uz primjenu strogih kriterija isključenja, došlo je do uključivanja relativno malog broja ispitanika. Nadalje, svi su sudionici bili bijele rase, što djelomično ograničava mogućnost ekstrapolacije rezultata na druge populacije i geografske regije. Također, serumske koncentracije endokana kao i mjerenje parametara periferne i centralne hemodinamike izvršena su samo jednom, dok bi serijsko praćenje moglo pružiti dodatne prognostičke informacije. U budućim istraživanjima, potencijalno isključivanje lijekova koji mogu utjecati na integritet endotela moglo bi dodatno doprinijeti razumijevanju mehanizama djelovanja endokana. Unatoč navedenim ograničenjima, jedinstveni fokus na populaciju bolesnika bez ŠB-a dodatno jača kliničku važnost naših rezultata. Smatramo da naše istraživanje predstavlja vrijedan doprinos sve većem broju dokaza koji ukazuju na povezanost razine endokana u serumu i krutosti arterija s progresijom KBB-a i nastankom KVD-a u ovoj populaciji bolesnika.

7. ZAKLJUČCI

Iz provedenog istraživanja i analiziranih rezultata mogu se izvesti slijedeći zaključci:

- U nedijabetičnih bolesnika na HD-u, oni s višim serumskim koncentracijama endokana imali su i viši PWV te veći broj KVD-a i veću smrtnost. Gledajući pojedinačno, PWV je tu povezanost imao samo u univarijatnoj analizi, dok ju je endokan zadržao i u multivarijatnoj analizi, čime on postaje potencijalno kardiovaskularni čimbenik rizika koji može poslužiti kao važan biomarker koji odražava endotelnu disfunkciju kao ključni doprinos kardiovaskularnom morbiditetu u ZSKBB-u, posebno kad se koristi uz PWV.
- Bolesnici s višim razinama endokana i PWV-a imaju višu razinu CRP-a, čime se još jednom potvrdila poveznica između endotelne disfunkcije, krutosti arterija te kronične upale.
- U mjerenjima prije i poslije HD-a, od parametara centralne i periferne hemodinamike, jedino su PWV i Alx zadržali statističku značajnost ovisno o koncentraciji endokana
- Provođenje većih, multicentričnih kliničkih studija, s naglaskom na učestala praćenja, moglo bi doprinijeti daljnjem boljem razumijevanju primjenjivosti endokana kao prognostičkog i dijagnostičkog markera u bubrežnim bolestima, uz mogućnost definiranja relevantnih graničnih vrijednosti njegove serumске koncentracije za pravodobnu identifikaciju bolesnika s najvišim kardiovaskularnim rizikom.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: istražiti odnos između serumske koncentracije endokana i PWV-a u bolesnika na kroničnoj hemodijalizi koji nemaju šećernu bolest te njihov utjecaj na nastanak KVD-a te na ukupno preživljenje. Dodatni su ciljevi istražiti odnose između endokana i PWV-a s ostalim biokemijskim i hemodinamskim parametrima te istražiti postoji li mogućnost korištenja PWV-a i koncentracije endokana kao prediktora nastanka KVD-a i smrti.

Nacrt studije: Studija je koncipirana kao jednocentrična, opservacijska i prospektivna.

Ispitanici i metode: Praćeni su nedijabetični bolesnici na HD-u bez prethodnih KVD-a. Ukupno je 75 ispitanika zadovoljilo kriterije uključivanja. Mjereni su serumski endokan, standardni biokemijski i antropometrijski parametri te parametri periferne i centralne hemodinamike prije i nakon HD-a u svih sudionika.

Rezultati: Bolesnici s višim vrijednostima endokana i PWV-a bili su stariji, dulje na HD-u, imali su povišene koncentracije CRP-a i snižene razine albumina te su češće koristili TCVK za vaskularni pristup. Više serumske koncentracije endokana bile su neovisno povezane s povećanim rizikom od KVD-a (aHR = 4,09; 95% CI: 1,72–9,74), smrtnosti povezane s KVD-om (aHR = 2,64; 95% CI: 1,23–5,66) te ukupnom smrtnosti (aHR = 1,86; 95% CI: 1,07–3,23), i prije i nakon prilagodbe na unaprijed definirane zbunjujuće čimbenike, pri čemu je najviši tercil endokana imao najkraće razdoblje preživljenja bez događaja.

Zaključci: U nedijabetičnih bolesnika na HD-u oni s višim serumskim koncentracijama endokana imali su i viši PWV te veći broj KVD-a i veću smrtnost. Gledajući pojedinačno, PWV je tu povezanost imao samo u univarijatnoj analizi, dok ju je endokan zadržao i u multivarijatnoj analizi, čime on postaje potencijalno kardiovaskularni čimbenik rizika koji može poslužiti kao važan biomarker koji odražava endotelnu disfunkciju kao ključni doprinos kardiovaskularnom morbiditetu u ZSKBB-u, posebno kad se koristi uz PWV. Buduće multicentrične studije s ponovljenim mjerenjima endokana i PWV-a trebale bi potvrditi njegovu prognostičku i dijagnostičku vrijednost, osobito u dugotrajnom praćenju bolesnika.

Ključne riječi: kronična bubrežna bolest; hemodijaliza; kardiovaskularni događaji, brzina pulsog vala; endokan

9. SUMMARY

Objective: To investigate the relationship between serum endocan levels and PWV in non-diabetic patients undergoing chronic haemodialysis (HD), and to assess their impact on the occurrence of cardiovascular events (CVD) and overall survival. Additional aims were to explore associations between endocan and PWV with other biochemical and haemodynamic parameters and to evaluate the potential use of PWV and endocan as predictors of cardiovascular events and mortality.

Study design: This was a single-centre, observational, prospective study.

Participants and methods: Non-diabetic HD patients without a history of CVD were observed. A total of 75 participants met the inclusion criteria. Serum endocan, standard biochemical and anthropometric parameters, and peripheral and central haemodynamic parameters were measured in all participants before and after HD.

Results: Patients with higher endocan and PWV values were older, had a longer HD vintage, had elevated CRP levels, lower albumin concentrations, and more frequently used a tunnelled central venous catheter (TCVC) for vascular access. Higher serum endocan levels were independently associated with increased risk of CVD (aHR = 4.09; 95% CI: 1.72–9.74), CVD-related mortality (aHR = 2.64; 95% CI: 1.23–5.66), and all-cause mortality (aHR = 1.86; 95% CI: 1.07–3.23), both before and after adjustment for predefined confounding factors. Patients in the highest endocan tertile had the shortest event-free survival.

Conclusions: In non-diabetic HD patients, those with higher serum endocan levels also had higher PWV, a higher number of cardiovascular events, and greater mortality. While PWV was only associated with outcomes in univariate analysis, endocan retained significance in multivariate analysis, suggesting its potential role as a cardiovascular risk factor and valuable biomarker of endothelial dysfunction, a key contributor to cardiovascular morbidity in end-stage kidney disease (ESKD), particularly when used alongside PWV. Future multicentre studies with repeated measurements of endocan and PWV should confirm its prognostic and diagnostic value, especially in long-term patient monitoring.

Keywords: Chronic kidney disease; haemodialysis; cardiovascular events pulse wave velocity; endocan.

10. LITERATURA

1. Stevens PE, Ahmed SB, Carrero JJ, Foster B, Francis A, Hall RK, et al. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int.* 2024 Apr;105(4):S117–314.
2. Bikbov B, Purcell CA, Levey AS, Smith M, Abdoli A, Abebe M, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet.* 2020 Feb;395(10225):709–33.
3. Cockwell P, Fisher LA. The global burden of chronic kidney disease. *The Lancet.* 2020 Feb;395(10225):662–4.
4. Shlipak MG, Tummalaipalli SL, Boulware LE, Grams ME, Ix JH, Jha V, et al. The case for early identification and intervention of chronic kidney disease: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2021 Jan;99(1):34–47.
5. Saran R, Robinson B, Abbott KC, Agodoa LYC, Albertus P, Ayanian J, et al. US Renal Data System 2016 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2017 Mar;69(3):A7–8.
6. Collins AJ. Cardiovascular Mortality in End-Stage Renal Disease. *Am J Med Sci.* 2003 Apr;325(4):163–7.
7. 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. *Hypertension.* 2003 Nov;42(5):1050–65.
8. Marshall MR, Byrne BG, Kerr PG, McDonald SP. Associations of hemodialysis dose and session length with mortality risk in Australian and New Zealand patients. *Kidney Int.* 2006 Apr;69(7):1229–36.
9. Pippias M, Stel VS, Abad Diez JM, Afentakis N, Herrero-Calvo JA, Arias M, et al. Renal replacement therapy in Europe: a summary of the 2012 ERA-EDTA Registry Annual Report. *Clin Kidney J.* 2015 Jun;8(3):248–61.

10. 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 Oct 28;108(17):2154–69.
11. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality With Arterial Stiffness. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Mar;55(13):1318–27.
12. László A, Reusz G, Nemcsik J. Ambulatory arterial stiffness in chronic kidney disease: a methodological review. *Hypertens Res*. 2016 Apr;39(4):192–8.
13. Wassertheurer S, Kropf J, Weber T, Van Der Giet M, Baulmann J, Ammer M, et al. A new oscillometric method for pulse wave analysis: comparison with a common tonometric method. *J Hum Hypertens*. 2010 Aug;24(8):498–504.
14. Liao JK. Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation. *J Clin Invest*. 2013 Feb 1;123(2):540–1.
15. Radeva MY, Waschke J. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier. *Acta Physiol*. 2018 Jan;222(1):e12860.
16. Kolářová H, Ambrůzová B, Švihálková Šindlerová L, Klinke A, Kubala L. Modulation of Endothelial Glycocalyx Structure under Inflammatory Conditions. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:1–17.
17. Sturtzel C. Endothelial Cells. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1003:71-91.
18. Bragulat E, Sierra ADL. Salt Intake, Endothelial Dysfunction, and Salt-Sensitive Hypertension. *J Clin Hypertens*. 2002 Jan;4(1):41–6.
19. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol*. 2017;956:511-540.
20. Gimbrone MA, García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016 Feb 19;118(4):620–36.

21. Drenjancevic I, Jukic I, Stupin A, Cosic A, Stupin M, Selthofer-Relatic K. The Markers of Endothelial Activation. In: Lenasi H, editor. Endothelial Dysfunction - Old Concepts and New Challenges. London: InTech; 2018.
22. Roustit M, Cracowski J. Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods. *Microcirculation*. 2012 Jan;19(1):47–64.
23. Feihl F, Liaudet L, Waeber B, Levy BI. Hypertension: A Disease of the Microcirculation? *Hypertension*. 2006 Dec;48(6):1012–7.
24. Hofmeister LH, Perisic S, Titze J. Tissue sodium storage: evidence for kidney-like extrarenal countercurrent systems? *Pflüg Arch - Eur J Physiol*. 2015 Mar;467(3):551–8.
25. Flammer A, Lüscher T. Three decades of endothelium research: From the detection of NO to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases. *Swiss Med Wkly*. 2010 Dec 1;140:w13122.
26. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction: Testing and Clinical Relevance. *Circulation*. 2007 Mar 13;115(10):1285–95.
27. Storch AS, Mattos JDD, Alves R, Galdino IDS, Rocha HNM. Methods of Endothelial Function Assessment: Description and Applications. *Int J Cardiovasc Sci*. 2017;30(3):262-73.
28. Alexander Y, Osto E, Schmidt-Trucksäss A, Shechter M, Trifunovic D, Duncker DJ, et al. Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the European Society of Cardiology Working Groups on Atherosclerosis and Vascular Biology, Aorta and Peripheral Vascular Diseases, Coronary Pathophysiology and Microcirculation, and Thrombosis. *Cardiovasc Res*. 2021 Jan 1;117(1):29–42.
29. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The Vascular Endothelium and Human Diseases. *Int J Biol Sci*. 2013;9(10):1057–69.
30. Antonio Carlos Palandri Chagas PLDL. Endothelium and Cardiovascular Diseases.
31. Lassalle P, Molet S, Janin A, Van Der Heyden J, Tavernier J, Fiers W, et al. ESM-1 Is a Novel Human Endothelial Cell-specific Molecule Expressed in Lung and Regulated by Cytokines. *J Biol Chem*. 1996 Aug;271(34):20458–64.
32. Bécharde D, Gentina T, Delehedde M, Scherpereel A, Lyon M, Aumercier M, et al. Endocan Is a Novel Chondroitin Sulfate/Dermatan Sulfate Proteoglycan That Promotes

Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor Mitogenic Activity. *J Biol Chem*. 2001 Dec;276(51):48341–9.

33. Yang YC, Pan KF, Lee WJ, Chang JH, Tan P, Gu CC, et al. Circulating Proteoglycan Endocan Mediates EGFR-Driven Progression of Non–Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res*. 2020 Aug 15;80(16):3292–304.

34. Delehedde M, Devenyns L, Maurage CA, Vivès RR. Endocan in Cancers: A Lesson from a Circulating Dermatan Sulfate Proteoglycan. *Int J Cell Biol*. 2013;2013:1–11.

35. Depontieu F, Caires NDF, Gourcerol D, Giordano J, Grigoriu B, Delehedde M, et al. Development of monoclonal antibodies and ELISA specific for the mouse vascular endocan. *J Immunol Methods*. 2012 Apr;378(1–2):88–94.

36. Sarrazin S, Adam E, Lyon M, Depontieu F, Motte V, Landolfi C, et al. Endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1): A potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer*. 2006 Jan;1765(1):25–37.

37. Zhang S, Zuo L, Zhou Q, Gui S, Shi R, Wu Q, et al. Expression and distribution of endocan in human tissues. *Biotech Histochem*. 2012 Apr;87(3):172–8.

38. Kechagia M, Papassotiriou I, Gourgoulialis KI. Endocan and the respiratory system: a review. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2016 Dec;Volume 11:3179–87.

39. Bechard D, Meignin V, Scherpereel A, Oudin S, Kervoaze G, Bertheau P, et al. Characterization of the Secreted Form of Endothelial-Cell-Specific Molecule 1 by Specific Monoclonal Antibodies. *J Vasc Res*. 2000;37(5):417–25.

40. Matano F, Yoshida D, Ishii Y, Tahara S, Teramoto A, Morita A. Endocan, a new invasion and angiogenesis marker of pituitary adenomas. *J Neurooncol*. 2014 May;117(3):485–91.

41. Maurage CA, Adam E, Minéo JF, Sarrazin S, Debunne M, Siminski RM, et al. Endocan Expression and Localization in Human Glioblastomas: *J Neuropathol Exp Neurol*. 2009 Jun;68(6):633–41.

42. Grigoriu BD, Depontieu F, Scherpereel A, Gourcerol D, Devos P, Ouatas T, et al. Endocan Expression and Relationship with Survival in Human Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2006 Aug 1;12(15):4575–82.
43. Leroy X, Aubert S, Zini L, Franquet H, Kervoaze G, Villers A, et al. Vascular endocan (ESM-1) is markedly overexpressed in clear cell renal cell carcinoma. *Histopathology*. 2010 Jan;56(2):180–7.
44. Lee YH, Kim JS, Kim SY, Kim YG, Moon JY, Jeong KH, et al. Plasma endocan level and prognosis of immunoglobulin A nephropathy. *Kidney Res Clin Pract*. 2016 Sep;35(3):152–9.
45. Kim KH, Lee HH, Yoon YE, Na JC, Kim SY, Cho YI, et al. Clinical validation of serum endocan (ESM-1) as a potential biomarker in patients with renal cell carcinoma. *Oncotarget*. 2018 Jan 2;9(1):662–7.
46. Balta I, Balta S, Koryurek OM, Demirkol S, Mikhailidis DP, Celik T, et al. Serum endocan levels as a marker of disease activity in patients with Behçet disease. *J Am Acad Dermatol*. 2014 Feb;70(2):291–6.
47. De Freitas Caires N, Gaudet A, Portier L, Tsicopoulos A, Mathieu D, Lassalle P. Endocan, sepsis, pneumonia, and acute respiratory distress syndrome. *Crit Care*. 2018 Dec;22(1):280.
48. Abid MdR, Yi X, Yano K, Shih SC, Aird WC. Vascular endocan is preferentially expressed in tumor endothelium. *Microvasc Res*. 2006 Nov;72(3):136–45.
49. Lee HG, Choi HY, Bae JS. Endocan as a potential diagnostic or prognostic biomarker for chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2014 Dec;86(6):1079–81.
50. Nirala BK, Perumal V, Gohil NK. Glycated serum albumin stimulates expression of endothelial cell specific molecule-1 in human umbilical vein endothelial cells: Implication in diabetes mediated endothelial dysfunction. *Diab Vasc Dis Res*. 2015 Jul;12(4):290–7.
51. Madhivathanan PR, Fletcher N, Gaze D, Thomson R, Chandrasekaran V, Al-Subaie N, et al. Perioperative kinetics of endocan in patients undergoing cardiac surgery with and without cardiopulmonary bypass. *Cytokine*. 2016 Jul;83:8–12.

52. Nalewajska M, Gurazda K, Marchelek-Myśliwiec M, Pawlik A, Dziedziejko V. The Role of Endocan in Selected Kidney Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 25;21(17):6119.
53. Sun H, Zhang H, Li K, Wu H, Zhan X, Fang F, et al. ESM-1 promotes adhesion between monocytes and endothelial cells under intermittent hypoxia. *J Cell Physiol.* 2019 Feb;234(2):1512–21.
54. Lee W, Ku S, Kim S, Bae J. Endocan Elicits Severe Vascular Inflammatory Responses In Vitro and In Vivo. *J Cell Physiol.* 2014 May;229(5):620–30.
55. Chen J, Jiang L, Yu XH, Hu M, Zhang YK, Liu X, et al. Endocan: A Key Player of Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Jan 5;8:798699.
56. Tayman MA, Önder C, Kurgan Ş, Serdar MA, Günhan M. Endocan (ESM-1) levels in gingival crevicular fluid correlate with ICAM-1 and LFA-1 in periodontitis. *Braz Oral Res.* 2021;35:e005.
57. Samouilidou E, Athanasiadou V, Grapsa E. Prognostic and Diagnostic Value of Endocan in Kidney Diseases. Anglani F, editor. *Int J Nephrol.* 2022 Mar 14;2022:1–13.
58. Liu S, Bai T, Feng J. Endocan, a novel glycoprotein with multiple biological activities, may play important roles in neurological diseases. *Front Aging Neurosci.* 2024 Sep 12;16:1438367.
59. Sun L, Sun C, Sun J, Yang W. Downregulation of Endocan in myeloid leukemia cells inhibits proliferation and promotes apoptosis by suppressing nuclear factor- κ B activity. *Mol Med Rep.* 2019 Apr;19(4):3247-3254.
60. Bar A, Targosz-Korecka M, Suraj J, Proniewski B, Jasztal A, Marczyk B, et al. Degradation of Glycocalyx and Multiple Manifestations of Endothelial Dysfunction Coincide in the Early Phase of Endothelial Dysfunction Before Atherosclerotic Plaque Development in Apolipoprotein E/Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. *J Am Heart Assoc.* 2019 Mar 19;8(6):e011171.
61. Sieve I, Münster-Kühnel AK, Hilfiker-Kleiner D. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Vascul Pharmacol.* 2018 Jan;100:26–33.
62. Becker BF, Chappell D, Jacob M. Endothelial glycocalyx and coronary vascular permeability: the fringe benefit. *Basic Res Cardiol.* 2010 Nov;105(6):687–701.

63. Lukasz A, Hillgruber C, Oberleithner H, Kusche-Vihrog K, Pavenstädt H, Rovas A, et al. Endothelial glycocalyx breakdown is mediated by angiotensin-2. *Cardiovasc Res*. 2017 May 1;113(6):671–80.
64. Voyvodic PL, Min D, Liu R, Williams E, Chitalia V, Dunn AK, et al. Loss of Syndecan-1 Induces a Pro-inflammatory Phenotype in Endothelial Cells with a Dysregulated Response to Atheroprotective Flow. *J Biol Chem*. 2014 Apr;289(14):9547–59.
65. Mitra R, O’Neil GL, Harding IC, Cheng MJ, Mensah SA, Ebong EE. Glycocalyx in Atherosclerosis-Relevant Endothelium Function and as a Therapeutic Target. *Curr Atheroscler Rep*. 2017 Dec;19(12):63.
66. Lin JH, Hsu BG, Wang CH, Tsai JP. Endocan as a Potential Marker for Predicting All-Cause Mortality in Hemodialysis Patients. *J Clin Med*. 2023 Nov 30;12(23):7427.
67. Kumar SK, Mani KP. Endocan alters nitric oxide production in endothelial cells by targeting AKT/eNOS and NFkB/iNOS signaling. *Nitric Oxide*. 2021 Dec;117:26–33.
68. Bessa J, Albino-Teixeira A, Reina-Couto M, Sousa T. Endocan: A novel biomarker for risk stratification, prognosis and therapeutic monitoring in human cardiovascular and renal diseases. *Clin Chim Acta*. 2020 Oct;509:310–35.
69. Scuruchi M, Aliquò F, Avenoso A, Mandraffino G, Vermiglio G, Minuti A, et al. Endocan Knockdown Down-Regulates the Expression of Angiogenesis-Associated Genes in IL-1 β Activated Chondrocytes. *Biomolecules*. 2023 May 18;13(5):851.
70. Rocha SF, Schiller M, Jing D, Li H, Butz S, Vestweber D, et al. Esm1 Modulates Endothelial Tip Cell Behavior and Vascular Permeability by Enhancing VEGF Bioavailability. *Circ Res*. 2014 Aug 29;115(6):581–90.
71. Rennel E, Mellberg S, Dimberg A, Petersson L, Botling J, Ameer A, et al. Endocan is a VEGF-A and PI3K regulated gene with increased expression in human renal cancer. *Exp Cell Res*. 2007 Apr;313(7):1285–94.
72. Rebollo J, Geliebter J, Reyes N. ESM-1 siRNA Knockdown Decreased Migration and Expression of CXCL3 in Prostate Cancer Cells. *Int J Biomed Sci IJBS*. 2017 Mar;13(1):35–42.

73. Kartik Kumar S, Muthusamy S, Kadirvel S, Mani KP. In-silico and in-vitro analysis of endocan interaction with statins. *Int J Biol Macromol.* 2020 Mar;146:1087–99.
74. Aliquò F, Minuti A, Avenoso A, Mandraffino G, Campo GM, Campo S, et al. Endocan Promotes Pro-Tumorigenic Signaling in Lung Cancer Cells: Modulation of Cell Proliferation, Migration and lncRNAs H19 and HULC Expression. *Int J Mol Sci.* 2023 May 3;24(9):8178.
75. Huang X, Chen C, Wang X, Zhang J yuan, Ren B hui, Ma D wei, et al. Prognostic value of endocan expression in cancers: evidence from meta-analysis. *OncoTargets Ther.* 2016 Oct;Volume 9:6297–304.
76. Pan KF, Yang YC, Lee WJ, Hua KT, Chien MH. Proteoglycan Endocan: A multifaceted therapeutic target in Cancer. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer.* 2022 Jan;1877(1):188672.
77. Kang YH, Ji NY, Lee CI, Lee HG, Kim JW, Yeom YI, et al. ESM-1 silencing decreased cell survival, migration, and invasion and modulated cell cycle progression in hepatocellular carcinoma. *Amino Acids.* 2011 Mar;40(3):1003–13.
78. Malyszko J. Mechanism of endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Clin Chim Acta.* 2010 Oct;411(19–20):1412–20.
79. Gunay M. Endocan, a New Marker for Inflammation and Endothelial Dysfunction, Increases in Acute Kidney Injury. *North Clin Istanbul.* 2018 Sep 6;6(2):124-128.
80. Azimi A. Could “calprotectin” and “endocan” serve as “Troponin of Nephrologists”? *Med Hypotheses.* 2017 Feb;99:29–34.
81. Afsar B, Takir M, Kostek O, Covic A, Kanbay M. Endocan: A New Molecule Playing a Role in the Development of Hypertension and Chronic Kidney Disease? *J Clin Hypertens.* 2014 Dec;16(12):914–6.
82. Samouilidou E, Bountou E, Papandroulaki F, Papamanolis M, Papakostas D, Grapsa E. Serum Endocan Levels are Associated With Paraoxonase 1 Concentration in Patients With Chronic Kidney Disease. *Ther Apher Dial.* 2018 Aug;22(4):325–31.

83. Poon PYK, Ng JKC, Fung WWS, Chow KM, Kwan BCH, Li PKT, et al. Relationship between Plasma Endocan Level and Clinical Outcome of Chinese Peritoneal Dialysis Patients. *Kidney Blood Press Res.* 2019;44(5):1259–70.
84. Oka S, Obata Y, Sato S, Torigoe K, Sawa M, Abe S, et al. Serum Endocan as a Predictive Marker for Decreased Urine Volume in Peritoneal Dialysis Patients. *Med Sci Monit.* 2017 Mar 26;23:1464–70.
85. Malyszko J, Koc-Żórawska E, Malyszko JS. Endocan Concentration in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2018 Jul;50(6):1798–801.
86. Su YH, Shu KH, Hu CP, Cheng CH, Wu MJ, Yu TM, et al. Serum Endocan Correlated With Stage of Chronic Kidney Disease and Deterioration in Renal Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2014 Mar;46(2):323–7.
87. Raptis V, Bakogiannis C, Loutradis C, Boutou AK, Lampropoulou I, Intzevidou E, et al. Levels of Endocan, Angiopoietin-2, and Hypoxia-Inducible Factor-1a in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease and Different Levels of Renal Function. *Am J Nephrol.* 2018;47(4):231–8.
88. Ekiz-Bilir B, Bilir B, Aydın M, Soysal-Atile N. Evaluation of endocan and endoglin levels in chronic kidney disease due to diabetes mellitus. *Arch Med Sci.* 2019;15(1):86–91.
89. Cikrikcioglu MA, Erturk Z, Kilic E, Celik K, Ekinici I, Yasin Cetin AI, et al. Endocan and albuminuria in type 2 diabetes mellitus. *Ren Fail.* 2016 Nov 25;38(10):1647–53.
90. Rahmanian L, Orbegoza Cortés D, Irazabal M, Mendoza M, Santacruz C, De Backer D, et al. Elevated endocan levels are associated with development of renal failure in ARDS patients. *Intensive Care Med Exp.* 2015 Dec;3(S1):A264, 2197-425X-3-S1-A264.
91. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C yuan. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *N Engl J Med.* 2004 Sep 23;351(13):1296–305.
92. Shlipak MG, Fried LF, Crump C, Bleyer AJ, Manolio TA, Tracy RP, et al. Elevations of Inflammatory and Procoagulant Biomarkers in Elderly Persons With Renal Insufficiency. *Circulation.* 2003 Jan 7;107(1):87–92.

93. Yilmaz MI, Siriopol D, Saglam M, Kurt YG, Unal HU, Eyileten T, et al. Plasma endocan levels associate with inflammation, vascular abnormalities, cardiovascular events, and survival in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014 Dec;86(6):1213–20.
94. Pawlak K, Mysliwiec M, Pawlak D. Endocan — the new endothelial activation marker independently associated with soluble endothelial adhesion molecules in uraemic patients with cardiovascular disease. *Clin Biochem.* 2015 Apr;48(6):425–30.
95. Kim JS, Ko GJ, Kim YG, Lee SY, Lee DY, Jeong KH, et al. Plasma Endocan as a Predictor of Cardiovascular Event in Patients with End-Stage Renal Disease on Hemodialysis. *J Clin Med.* 2020 Dec 18;9(12):4086.
96. McMillan R, Skiadopoulos L, Hoppensteadt D, Guler N, Bansal V, Parasuraman R, et al. Biomarkers of Endothelial, Renal, and Platelet Dysfunction in Stage 5 Chronic Kidney Disease Hemodialysis Patients With Heart Failure. *Clin Appl Thromb.* 2018 Mar;24(2):235–40.
97. Hureau M, Poissy J, Mathieu D, Dubucquoi S, Gaudet A. Effects of intermittent hemodialysis on plasmatic levels of endocan. *Crit Care.* 2021 Dec;25(1):412.
98. Li S, Wang L, Wang C, Wang Q, Yang H, Liang P, et al. Detection on Dynamic Changes of Endothelial Cell Specific Molecule–1 in Acute Rejection After Renal Transplantation. *Urology.* 2012 Sep;80(3):738.e1–738.e8.
99. Lee YH, Kim SY, Moon H, Seo JW, Kim DJ, Park SH, et al. Endocan as a marker of microvascular inflammation in kidney transplant recipients. *Sci Rep.* 2019 Feb 12;9(1):1854.
100. Cai H, Harrison DG. Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress. *Circ Res.* 2000 Nov 10;87(10):840–4.
101. Savoia C, Sada L, Zezza L, Pucci L, Lauri FM, Befani A, et al. Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction in Experimental Hypertension. *Int J Hypertens.* 2011;2011:1–8.
102. Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, Ozturk C, Kurtoglu E, Demir M, et al. Endocan—A Novel Inflammatory Indicator in Newly Diagnosed Patients With Hypertension: A Pilot Study. *Angiology.* 2014 Oct;65(9):773–7.

103. Musialowska D, Zbroch E, Koc-Zorawska E, Musialowski P, Malyszko J. Endocan Concentration in Patients With Primary Hypertension. *Angiology*. 2018 Jul;69(6):483–9.
104. Wang X sheng, Yang W, Luo T, Wang J ming, Jing Y yan. Serum Endocan Levels Are Correlated with the Presence and Severity of Coronary Artery Disease in Patients with Hypertension. *Genet Test Mol Biomark*. 2015 Mar;19(3):124–7.
105. Xiong C, Zhao Z wen, Chen Z yang, Wu L zhen, Luo Y kun, Hu F dong, et al. Elevated Human Endothelial Cell-Specific Molecule-1 Level and Its Association with Coronary Artery Disease in Patients with Hypertension. *J Investig Med*. 2015 Oct;63(7):867–70.
106. Oktar SF, Guney I, Eren SA, Oktar L, Kosar K, Buyukterzi Z, et al. Serum endocan levels, carotid intima-media thickness and microalbuminuria in patients with newly diagnosed hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2019 Nov 17;41(8):787–94.
107. Çimen T, Bilgin M, Akyel A, Felekoğlu MA, Nallbani A, Özdemir Ş, et al. Endocan and Non-Dipping Circadian Pattern in Newly Diagnosed Essential Hypertension. *Korean Circ J*. 2016;46(6):827.
108. Daiber A, Steven S, Weber A, Shuvaev VV, Muzykantov VR, Laher I, et al. Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *Br J Pharmacol*. 2017 Jun;174(12):1591–619.
109. Crowther MA. Pathogenesis of Atherosclerosis. *Hematology*. 2005 Jan 1;2005(1):436–41.
110. Hassan WA, Behiry EG, Abdelshafy S, Salem T, Baraka EA. Assessment of Endocan Serum Level in Patients with Behçet Disease: Relation to Disease Activity and Carotid Intima Media Thickness. *Egypt J Immunol*. 2020 Jan;27(1):129–39.
111. Andrews TC, Raby K, Barry J, Naimi CL, Allred E, Ganz P, et al. Effect of Cholesterol Reduction on Myocardial Ischemia in Patients With Coronary Disease. *Circulation*. 1997 Jan 21;95(2):324–8.
112. Zhao T, Kecheng Y, Zhao X, Hu X, Zhu J, Wang Y, et al. The higher serum endocan levels may be a risk factor for the onset of cardiovascular disease: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Dec;97(49):e13407.

113. Kose M, Emet S, Akpinar TS, Kocaaga M, Cakmak R, Akarsu M, et al. Serum Endocan Level and the Severity of Coronary Artery Disease: A Pilot Study. *Angiology*. 2015 Sep;66(8):727–31.
114. Qiu CR, Fu Q, Sui J, Zhang Q, Wei P, Wu Y, et al. Serum Endothelial Cell-Specific Molecule 1 (Endocan) Levels in Patients With Acute Myocardial Infarction and Its Clinical Significance: A Pilot Study. *Angiology*. 2017 Apr;68(4):354–9.
115. Sun H, Fang F, Li K, Zhang H, Zhang M, Zhang L, et al. Circulating ESM-1 levels are correlated with the presence of coronary artery disease in patients with obstructive sleep apnea. *Respir Res*. 2019 Dec;20(1):188.
116. Çimen T, Efe TH, Akyel A, Sunman H, Algül E, Şahan HF, et al. Human Endothelial Cell-Specific Molecule-1 (Endocan) and Coronary Artery Disease and Microvascular Angina. *Angiology*. 2016 Oct;67(9):846–53.
117. Wang X, Nie SP. The coronary slow flow phenomenon: characteristics, mechanisms and implications. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2011 Dec;1(1):37–43.
118. Kundi H, Gok M, Kiziltunc E, Topcuoglu C, Cetin M, Cicekcioglu H, et al. The Relationship Between Serum Endocan Levels With the Presence of Slow Coronary Flow: A Cross-Sectional Study. *Clin Appl Thromb*. 2017 Jul;23(5):472–7.
119. Ye M fang, Zhao Z wen, Luo Y kun, Dong X feng, Yan Y ming. Elevated endocan concentration is associated with coronary slow flow. *Scand J Clin Lab Invest*. 2016 Jul 3;76(5):345–8.
120. Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, Ozturk C, Celik T, Iyisoy A. Endocan: A novel inflammatory indicator in cardiovascular disease? *Atherosclerosis*. 2015 Nov;243(1):339–43.
121. Celik T, Balta S, Karaman M, Ahmet Ay S, Demirkol S, Ozturk C, et al. Endocan, a novel marker of endothelial dysfunction in patients with essential hypertension: Comparative effects of amlodipine and valsartan. *Blood Press*. 2015 Jan 2;24(1):55–60.
122. Tadzic R, Mihalj M, Vcev A, Ennen J, Tadzic A, Drenjancevic-Peric I. The Effects of Arterial Blood Pressure Reduction on Endocan and Soluble Endothelial Cell Adhesion Molecules (CAMs) and CAMs Ligands Expression in Hypertensive Patients on Ca-Channel Blocker Therapy. *Kidney Blood Press Res*. 2013;37(2–3):103–15.

123. Tunçez A. Comparative Effects of Atorvastatin 80 mg and Rosuvastatin 40 mg On The Levels of Serum Endocan, Galectin-3 and Chemerin in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Anatol J Cardiol*. 2019 Nov;22(5):240-249.
124. Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, Tantry US, Gesheff T, Wei C, et al. Randomized Double-Blind Assessment of the ONSET and OFFSET of the Antiplatelet Effects of Ticagrelor Versus Clopidogrel in Patients With Stable Coronary Artery Disease: The ONSET/OFFSET Study. *Circulation*. 2009 Dec 22;120(25):2577–85.
125. Aquila G, Vieceli Dalla Sega F, Marracino L, Pavasini R, Cardelli LS, Piredda A, et al. Ticagrelor Increases SIRT1 and HES1 mRNA Levels in Peripheral Blood Cells from Patients with Stable Coronary Artery Disease and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 25;21(5):1576.
126. Wei P, Han B, Zhang WJ, Bai J, Jiang CY, Qiu CR, et al. Effect of ticagrelor on the serum level of hs-CRP, ESM-1 and short-term prognosis of patients with acute STEMI. *Exp Ther Med*. 2017 Feb;13(2):604–8.
127. Gao CZ, Ma QQ, Wu J, Liu R, Wang F, Bai J, et al. Comparison of the Effects of Ticagrelor and Clopidogrel on Inflammatory Factors, Vascular Endothelium Functions and Short-Term Prognosis in Patients with Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Emergency Percutaneous Coronary Intervention: a Pilot Study. *Cell Physiol Biochem*. 2018;48(1):385–96.
128. Klisic A, Kavaric N, Stanisic V, Vujcic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Ninic A, et al. Endocan and a novel score for dyslipidemia, oxidative stress and inflammation (DOI score) are independently correlated with glycated hemoglobin (HbA1c) in patients with prediabetes and type 2 diabetes. *Arch Med Sci*. 2020;16(1):42–50.
129. Arman Y, Akpınar TS, Kose M, Emet S, Yuruyen G, Akarsu M, et al. Effect of Glycemic Regulation on Endocan Levels in Patients With Diabetes: A Preliminary Study. *Angiology*. 2016 Mar;67(3):239–44.
130. Zolali E, Rezabakhsh A, Nabat E, Jaberli H, Rahbarghazi R, Garjani A. Metformin Effect on Endocan Biogenesis in Human Endothelial Cells Under Diabetic Condition. *Arch Med Res*. 2019 Jul;50(5):304–14.

131. Daugirdas JT, Depner TA, Inrig J, Mehrotra R, Rocco MV, Suri RS, et al. KDOQI Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy: 2015 Update. *Am J Kidney Dis*. 2015 Nov;66(5):884–930.
132. Blacher J, Safar ME, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Aortic pulse wave velocity index and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int*. 2003 May;63(5):1852–60.
133. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial Calcifications, Arterial Stiffness, and Cardiovascular Risk in End-Stage Renal Disease. *Hypertension*. 2001 Oct;38(4):938–42.
134. Guérin AP, Pannier B, Métivier F, Marchais SJ, London GM. Assessment and significance of arterial stiffness in patients with chronic kidney disease: *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2008 Nov;17(6):635–41.
135. Nemcsik J. Arterial stiffness, vascular calcification and bone metabolism in chronic kidney disease. *World J Nephrol*. 2012;1(1):25.
136. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006 Sep 25;27(21):2588–605.
137. Wilkinson IB, McEniery CM, Cockcroft JR. Central blood pressure estimation for the masses moves a step closer. *J Hum Hypertens*. 2010 Aug;24(8):495–7.
138. Hametner B, Wassertheurer S, Kropf J, Mayer C, Eber B, Weber T. Oscillometric estimation of aortic pulse wave velocity: comparison with intra-aortic catheter measurements. *Blood Press Monit*. 2013 Jun;18(3):173–6.
139. Akdam H, Ögünç H, Alp A, Özbek Ö, Ömürlü İK, Yeniçerioğlu Y, et al. Assessment of volume status and arterial stiffness in chronic kidney disease. *Ren Fail*. 2014 Feb;36(1):28–34.
140. Salvadé I, Schätti-Stählin S, Violetti E, Schönholzer C, Cereghetti C, Zwahlen H, et al. A prospective observational study comparing a non-operator dependent automatic PWV analyser to pulse pressure, in assessing arterial stiffness in hemodialysis. *BMC Nephrol*. 2015 Dec;16(1):62.

141. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018 Sep 1;39(33):3021–104.
142. Regnault V, Lagrange J, Pizard A, Safar ME, Fay R, Pitt B, et al. Opposite Predictive Value of Pulse Pressure and Aortic Pulse Wave Velocity on Heart Failure With Reduced Left Ventricular Ejection Fraction: Insights From an Eplerenone Post–Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study (EPHESUS) Substudy. *Hypertension*. 2014 Jan;63(1):105–11.
143. Chu CY, Lin TH, Hsu PC, Lee WH, Lee HH, Chiu CA, et al. Heart rate significantly influences the relationship between atrial fibrillation and arterial stiffness. *Int J Med Sci*. 2013;10(10):1295–300.
144. Caluwé R, De Vriese AS, Van Vlem B, Verbeke F. Measurement of pulse wave velocity, augmentation index, and central pulse pressure in atrial fibrillation: a proof of concept study. *J Am Soc Hypertens JASH*. 2018 Aug;12(8):627–32.
145. 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 May 11;99(18):2434–9.
146. Ferreira JP, Girerd N, Pannier B, Rossignol P, London GM. High Pulse-Wave Velocity Defines a Very High Cardiovascular Risk Cohort of Dialysis Patients under Age 60. *Am J Nephrol*. 2017;45(1):72–81.
147. Sarafidis PA, Loutradis C, Karpetas A, Tzanis G, Piperidou A, Koutroumpas G, et al. Ambulatory Pulse Wave Velocity Is a Stronger Predictor of Cardiovascular Events and All-Cause Mortality Than Office and Ambulatory Blood Pressure in Hemodialysis Patients. *Hypertension*. 2017 Jul;70(1):148–57.
148. Pannier B, Guérin AP, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Stiffness of Capacitive and Conduit Arteries: Prognostic Significance for End-Stage Renal Disease Patients. *Hypertension*. 2005 Apr;45(4):592–6.
149. Ben-Shlomo Y, Spears M, Boustred C, May M, Anderson SG, Benjamin EJ, et al. Aortic Pulse Wave Velocity Improves Cardiovascular Event Prediction. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Feb;63(7):636–46.

150. Verwoert GC, Elias-Smale SE, Rizopoulos D, Koller MT, Steyerberg EW, Hofman A, et al. Does aortic stiffness improve the prediction of coronary heart disease in elderly? The Rotterdam Study. *J Hum Hypertens*. 2012 Jan;26(1):28–34.
151. Saji N, Toba K, Sakurai T. Cerebral Small Vessel Disease and Arterial Stiffness: Tsunami Effect in the Brain. *Pulse*. 2015;3(3–4):182–9.
152. Kim J, Song TJ, Kim EH, Lee KJ, Lee HS, Nam CM, et al. Brachial-Ankle Pulse Wave Velocity for Predicting Functional Outcome in Acute Stroke. *Stroke*. 2014 Aug;45(8):2305–10.
153. Li X, Lyu P, Ren Y, An J, Dong Y. Arterial stiffness and cognitive impairment. *J Neurol Sci*. 2017 Sep;380:1–10.
154. Scuteri A, Wang H. Pulse Wave Velocity as a Marker of Cognitive Impairment in the Elderly. De La Torre JC, editor. *J Alzheimers Dis*. 2014 Oct 27;42(s4):S401–10.
155. Taniguchi Y, Fujiwara Y, Nofuji Y, Nishi M, Murayama H, Seino S, et al. Prospective Study of Arterial Stiffness and Subsequent Cognitive Decline Among Community-Dwelling Older Japanese. *J Epidemiol*. 2015;25(9):592–9.
156. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, et al. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Feb;39(4):695–701.
157. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, Yoon C, Gales B, Sider D, et al. Coronary-Artery Calcification in Young Adults with End-Stage Renal Disease Who Are Undergoing Dialysis. *N Engl J Med*. 2000 May 18;342(20):1478–83.
158. Temmar M, Liabeuf S, Renard C, Czernichow S, Esper NE, Shahapuni I, et al. Pulse wave velocity and vascular calcification at different stages of chronic kidney disease. *J Hypertens*. 2010 Jan;28(1):163–9.
159. Sedaghat S, Mattace-Raso FUS, Hoorn EJ, Uitterlinden AG, Hofman A, Ikram MA, et al. Arterial Stiffness and Decline in Kidney Function. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Dec;10(12):2190–7.
160. Tholen S, Klofat K, Pan CR, Schmaderer C, Lutz J, Heemann U, et al. Progression of Aortic Pulse Wave Velocity in Patients With Chronic Kidney Disease. *J Clin Hypertens*. 2013 Nov;15(11):833–8.

161. Krishnasamy R, Tan SJ, Hawley CM, Johnson DW, Stanton T, Lee K, et al. Progression of arterial stiffness is associated with changes in bone mineral markers in advanced CKD. *BMC Nephrol.* 2017 Dec;18(1):281.
162. McDonald SP, Russ GR, Kerr PG, Collins JF. ESRD in Australia and New Zealand at the end of the millennium: A report from the ANZDATA registry. *Am J Kidney Dis.* 2002 Dec;40(6):1122–31.
163. Covic A, Goldsmith DJA, Florea L, Gusbeth-Tatomir P, Covic M. The influence of dialytic modality on arterial stiffness, pulse wave reflections, and vasomotor function. *Perit Dial Int J Int Soc Perit Dial.* 2004;24(4):365–72.
164. Chang JH, Yoon SJ, Han SH, Shin SK, Jeon DW, Yang JY, et al. The impact of dialysis modality on arterial stiffness in patients with end-stage renal disease. *Ren Fail.* 2010 Sep;32(8):947–53.
165. Mimura T, Takenaka T, Kanno Y, Aoki H, Ohshima J, Suzuki H. Comparison of changes in pulse wave velocity in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis one year after introduction of dialysis therapy. *Adv Perit Dial Conf Perit Dial.* 2005;21:139–45.
166. Fortier C, Mac-Way F, Desmeules S, Marquis K, De Serres SA, Lebel M, et al. Aortic-Brachial Stiffness Mismatch and Mortality in Dialysis Population. *Hypertension.* 2015 Feb;65(2):378–84.
167. Shoji T, Emoto M, Shinohara K, Kakiya R, Tsujimoto Y, Kishimoto H, et al. Diabetes Mellitus, Aortic Stiffness, and Cardiovascular Mortality in End-Stage Renal Disease. *J Am Soc Nephrol.* 2001 Oct;12(10):2117–24.
168. Zoungas S, Cameron JD, Kerr PG, Wolfe R, Muske C, McNeil JJ, et al. Association of Carotid Intima-Medial Thickness and Indices of Arterial Stiffness With Cardiovascular Disease Outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis.* 2007 Oct;50(4):622–30.
169. Matschkal J, Mayer CC, Sarafidis PA, Lorenz G, Braunisch MC, Guenther R, et al. Comparison of 24-hour and Office Pulse Wave Velocity for Prediction of Mortality in Hemodialysis Patients. *Am J Nephrol.* 2019;49(4):317–27.
170. Lioufas N, Hawley CM, Cameron JD, Toussaint ND. Chronic Kidney Disease and Pulse Wave Velocity: A Narrative Review. *Int J Hypertens.* 2019 Feb 17;2019:1–11.

171. Karpetas A, Sarafidis PA, Georgianos PI, Protogerou A, Vakianis P, Koutroumpas G, et al. Ambulatory Recording of Wave Reflections and Arterial Stiffness during Intra- and Interdialytic Periods in Patients Treated with Dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015 Apr;10(4):630–8.
172. Di Micco L, Torraca S, Sirico ML, Tartaglia D, Di Iorio B. Daily dialysis reduces pulse wave velocity in chronic hemodialysis patients. *Hypertens Res*. 2012 May;35(5):518–22.
173. Koutroumbas G, Georgianos PI, Sarafidis PA, Protogerou A, Karpetas A, Vakianis P, et al. Ambulatory aortic blood pressure, wave reflections and pulse wave velocity are elevated during the third in comparison to the second interdialytic day of the long interval in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2015 Dec;30(12):2046–53.
174. Shin SJ, Kim YK, Chung S, Chung HW, Ihm SH, Park CW, et al. The Impact of the Aortic Pulse Wave Velocity on the Cardiovascular Outcomes of Hemodialysis Patients. *J Korean Med Sci*. 2009;24(Suppl 1):S121.
175. Power A, Charitaki E, Davenport A. Haemodialysis and Haemodiafiltration Lead to Similar Changes in Vascular Stiffness during Treatment. *Int J Artif Organs*. 2016 May;39(5):228–34.
176. Charitaki E, Davenport A. Does hemodiafiltration reduce vascular stiffness measured by aortic pulse wave velocity compared with high-flux hemodialysis? *Hemodial Int*. 2014 Apr;18(2):391–5.
177. London GAAM, Marchais SJ, Gue[Combining Acute Accent]rin AP, Boutouyrie P, Me[Combining Acute Accent]tivier F, De Vernejoul MC. Association of Bone Activity, Calcium Load, Aortic Stiffness, and Calcifications in ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2008 Sep;19(9):1827–35.
178. Charitaki E, Davenport A. Do higher dialysate calcium concentrations increase vascular stiffness in haemodialysis patients as measured by aortic pulse wave velocity? *BMC Nephrol*. 2013 Dec;14(1):189.

179. Kim JK, Moon SJ, Park HC, Lee JS, Sim SR, Bae SC, et al. Effects of Lowering Dialysate Calcium Concentrations on Arterial Stiffness in Patients Undergoing Hemodialysis. *Korean J Intern Med.* 2011;26(3):320.
180. LeBoeuf A, Mac-Way F, Utescu MS, De Serres SA, Douville P, Desmeules S, et al. Impact of dialysate calcium concentration on the progression of aortic stiffness in patients on haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Nov 1;26(11):3695–701.
181. Birdwell KA, Jaffe G, Bian A, Wu P, Ikizler TA. Assessment of arterial stiffness using pulse wave velocity in tacrolimus users the first year post kidney transplantation: a prospective cohort study. *BMC Nephrol.* 2015 Dec;16(1):93.
182. Mitchell A, Saez A, Kos M, Witzke O, Kribben A, Nürnberger J. Pulse wave velocity predicts mortality in renal transplant patients. *Eur J Med Res.* 2010;15(10):452.
183. Li Z, Qin Y, Du L, Luo X. An improvement of carotid intima-media thickness and pulse wave velocity in renal transplant recipients. *BMC Med Imaging.* 2018 Dec;18(1):23.
184. Whayne TF. Endocan in Hypertension and Cardiovascular Disease. *Angiology.* 2014 Oct;65(9):757–9.
185. Jofré R, Rodriguez-Benitez P, López-Gómez JM, Pérez-Garcia R. Inflammatory Syndrome in Patients on Hemodialysis. *J Am Soc Nephrol.* 2006 Dec;17(12_suppl_3):S274–80.
186. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol.* 2007 Sep;7(9):678–89.
187. Canaud B, Kooman JP, Selby NM, Taal MW, Francis S, Maierhofer A, et al. Dialysis-Induced Cardiovascular and Multiorgan Morbidity. *Kidney Int Rep.* 2020 Nov;5(11):1856–69.
188. Kokubo K, Kurihara Y, Kobayashi K, Tsukao H, Kobayashi H. Evaluation of the Biocompatibility of Dialysis Membranes. *Blood Purif.* 2015;40(4):293–7.
189. Campo S, Lacquaniti A, Trombetta D, Smeriglio A, Monardo P. Immune System Dysfunction and Inflammation in Hemodialysis Patients: Two Sides of the Same Coin. *J Clin Med.* 2022 Jun 28;11(13):3759.

190. Lu Q, Cheng LT, Wang T, Wan J, Liao LL, Zeng J, et al. Visceral Fat, Arterial Stiffness, and Endothelial Function in Peritoneal Dialysis Patients. *J Ren Nutr*. 2008 Nov;18(6):495–502.
191. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens*. 2012 Mar;30(3):445–8.
192. Wu TJ, Wang CH, Lai YH, Kuo CH, Lin YL, Hsu BG. Serum Endocan Is a Risk Factor for Aortic Stiffness in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis. *Medicina (Mex)*. 2024 Jun 14;60(6):984.
193. Khalaji A, Behnoush AH, Mohtasham Kia Y, Alehossein P, Bahiraie P. High circulating endocan in chronic kidney disease? A systematic review and meta-analysis. Battaglia Y, editor. *PLOS ONE*. 2023 Aug 9;18(8):e0289710.

11. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Mario Šafer

Adresa: Ulica Vidove gore 19, Osijek

Tel: +385 98 267 965

E-mail: mario.safer27@gmail.com

Državljanstvo: hrvatsko

Datum rođenja: 02.07.1987.

Obrazovanje:

6/2023. Abdominal Ultrasound BachelorClass Course, 1,2,3 Sonography, Medical University of Vienna

6/2023. Carotid Ultrasound MasterClass, 1,2,3 Sonography, Medical University of Vienna

3/2019. Praktična radionica biopsija bubrega i algoritmi liječenja primarnih glomerularnih bolesti, Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju KBC Zagreb

2019.: Poslijediplomski stručni studij „Nefrologija“, Medicinski fakultet Zagreb

2016. – danas: član hrvatskih stručnih društava; Hrvatsko društvo za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju, Hrvatsko društvo za bubreg, Hrvatsko društvo za nadomještanje funkcije organa; Hrvatsko društvo za hipertenziju; član Europskog nefrološkog društva, ERA European renal association

2015. – danas: Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, Medicinski fakultet Osijek

2012. dobitnik rektorove nagrade za ukupni prosjek tijekom studija

2006. – 2012.: Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku; akademski naziv: Doktor medicine

2002. – 2006.: Opća gimnazija „Stjepan Ivšić“ Orahovica

Zaposlenje:

2021. – danas: specijalist nefrologije, voditelj Odjela za nefrologiju i hemodijalizu pri Službi internističkih djelatnosti Opće bolnice Virovitica

4. 7. 2021.: položen specijalistički ispit iz Nefrologije, KBC Zagreb

2016. – 2021.: specijalizant nefrologije za Opću bolnicu Virovitica u KBC-u Osijek

2013. – 2015.: Dom zdravlja Virovitičko-podravske županije

2012. – 2013.: doktor medicine, liječnički pripravnički staž, KBC Osijek, Osijek

Znanstvena i stručna djelatnost:

Objavljeni znanstveni radovi:

1. Šafer M, Feldi I, Šahinović I, Tolj I, Pirić M, Šojat D, Oštarijaš E, Mihaljević D. Serum Endocan as a Predictor of Survival and Cardiovascular Events in Patients Without Diabetic Kidney Disease on Chronic Haemodialysis: A Prospective, Observational Study. *Medicina*. 2025 May 27;61(6):991.
2. Pašara V, Šafer M, Jožićić M, Vujčić D, Lukić A, Mihaljević D. Parametri središnje i periferne hemodinamike u bolesnika liječenih hemodijalizom. *Acta Med Croatica*. 2017; 71(supl 1): 15-18
3. Popović Z, Raguz Lučić N, Šafer M, Steiner R, Heffer M. Najvažnija obilježja koronarografskih pacijenata liječenih u Koronarnoj intenzivnoj skrbi Kliničkog bolničkog centra Osijek. *Cardiologia Croatica*. 2013 Jul-Aug; 8:235-41.

Kongresna priopćenja, sažetci i poster:

5/2025. 8. Osječki nefrološki dani; Predavač na temu: Inkrementalna nadomjesna bubrežna terapija, Osijek

2/2024. Tečaj peritonejske dijalize, hrvatsko društvo za bubrege; Predavač na temu: Mliječni dijalizat, Đurđevac.

10/2023. 10. hrvatski kongres nefrologije, dijalize i transplantacije s međunarodnim sudjelovanjem; Poster: SGLT-2 inhibitor u imunokompromitiranog bolesnika s teškim nefrotskim sindromom u sklopu AL amiloidoze, Zagreb.

3/2023. 27. Dani internista Slavonije i Baranje; predavač na temu: Indikacija i interpretacija KMAT-a, Osijek

5/2022. 7. Osječki nefrološki dani; Predavač na temu: Hipertenzivna emergencija, Osijek.

3/2022. 26. Dani internista Slavonije i Baranje; Predavač na temu: Hipertenzivna emergencija i urgencija, Osijek.

10/2020. 9. hrvatski kongres nefrologije, dijalize i transplantacije s međunarodni sudjelovanjem; Poster: Brzina pulsog vala i reguliranost arterijskog tlaka u bolesnika sa stabilnom funkcijom bubrežnog presatka, Šibenik.

5/2019. 6.osječki nefrološki dani; Predavač na temu: Hemodijaliza i krutost arterija, Osijek.

10/2018. 7. Hrvatska transplantacijska škola, Hrvatsko društvo za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju Hrvatskog liječničkog zbora; Predavač na temu: Bubrežno presađivanje u bolesnice s endemskim sifilisom, Lopud

5/2017. 12. urološki I 5. nefrološki osječki dani; Predavač na temu: Krutost arterija i centralni venski tlak u bolesnika liječenih hemodijalizom, Osijek.

4/2017. 4. Hrvatski kongres o hipertenziji; Poster: Utjecaj liječenja kroničnom hemodijalizom na parametre središnje hemodinamike, Poreč.

9/2013. 7. Croatian Congress of Pharmacology; Poster: Analgesics use in elderly patients. Raguž Lučić N, Popović Z, Šafer M, Mimica-Matanović S., Zagreb

6/2013. 8. ISABS Conference on Human Genome Project Based Applications in Forensic Science, Anthropology and Individualized Medicine; Poster: Association between HLA and occurrence of new onset diabetes after transplantation. Popović Z, Šafer M, Raguž Lučić N, Feldi I, Barbić J, Zibar L, Split.

3/2012. 7. Annual Conference Bridges in Life Sciences; Poster: 3-year follow-up of coronarography patients from Osijek and Split University Hospital Centers. Popović Z,

Raguž-Lučić N, Makarović Z, Šafer M, Mlinarević D, Heffer M, Lukin A, Vari S, Steiner R, BUdimpešta

3/2012. 3. Kongres društva nastavnika opće/obiteljske medicine s međunarodnim sudjelovanjem; Poster: Prikaz slučaja bolesnika s cističnom fibrozom. Raguž Lučić N, Šafer M, Štefanović I, Vračević L, Petrović J, Zagreb

6/2011. 7. ISABS Conference on Human Genome Project Based Applications in Forensic Science, Anthropology and Individualized Medicine; Poster: Genotyping of TLR2 and TLR4 genes and kidney transplantation: Feldi I, Popović Z, Raguž Lučić N, Šafer M, Prlić D, Wagner J, Zibar L, Barbić J.