



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Nives Antolić i Anđelka Milakara

PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST KLINIČKI RELEVANTNIH
MEDICINSKO-BIOKEMIJSKIH PRETRAGA U PREDIKCIJI RANE
RETRANSPLANTACIJE JETRE

Zagreb, 2017.

Ovaj je rad izrađen u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu Kliničke bolnice Merkur, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Zlate Flegar-Meštrić, spec. medicinske biokemije i dr.sc. Sonje Perkov, spec.med.biokemije u suradnji s doc. dr.sc. Tajanom Filipec Kanižaj specijalist internist – gastroenterolog. Predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2016./2017.

POPIS KRATICA

AASLD	Američka udruga za jetrene bolesti (eng. <i>American Association for the Study of Liver Diseases</i>)
ALP	alkalna fosfataza
ALT	alanin-aminotransferaza
AST	aspartat-aminotransferaza
AUC	površina ispod krivulje (eng. <i>Area under curve</i>)
EAD	rana disfunkcija presatka (eng. <i>Early Allograft Dysfunction</i>)
ELTR	Europski registar za transplantaciju jetre (eng. <i>European Liver Transplant Registry</i>)
GGT	gama-glutamil transferaza
INR	internacionalno ujednačen odnos protrombinskog vremena (eng. <i>International Normalized Ratio</i>)
IPF	početna slaba funkcija (eng. <i>Initial poor function</i>)
LD	laktat dehidrogenaza
LIS	laboratorijski informatički sustav
LT	transplantacija jetre (eng. <i>Liver Transplantation</i>)
MELD	bodovni sistem opisivanja stadija kronične jetrene bolesti (eng. <i>Model for End-Stage Liver Disease</i>)
PNF	primarna ne-funkcija (eng. <i>Primary Non Function</i>)
POD	post-operativni dan (eng. <i>Post Operative Day</i>)
ROC	eng. Receiver operating curve

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Transplantacija jetre.....	1
1.2. Rana disfunkcija presatka.....	1
1.3. Uloga laboratorijske dijagnostike u transplantacijskoj medicini.....	2
1.3.1. AST.....	4
1.3.2. ALT.....	5
1.3.3. GGT.....	5
1.3.4. ALP.....	5
1.3.5. UKUPNI BILIRUBIN.....	5
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA.....	6
3. ISPITANICI I METODE.....	7
3.1. ISPITANICI.....	7
3.2. METODE ODREĐIVANJA AST-a, ALT-a, GGT-a, ALP-a i ukupnog BILIRUBINA.....	8
3.3. STATISTIČKE METODE.....	11
4. REZULTATI.....	11
5. RASPRAVA.....	22
6. ZAKLJUČAK.....	24
7. ZAHVALE.....	25
8. LITERATURA.....	26
9. SAŽETAK.....	28
10. SUMMARY.....	29

1. UVOD

1.1. Transplantacija jetre

Transplantacija jetre, LT, kirurški je najsloženija transplantacija, izuzev kompleksnih multiorganskih transplantacija¹. Ona se nameće kao esencijalno rješenje u terapiji akutnog ili kroničnog zatajenja jetre. Ponekad je to i jedina metoda liječenja za pacijente u završnom stadiju bolesti jetre. Iako je postupak transplantacije za sva indicirana stanja isti, dijagnostički postupak, kriteriji, očekivanja i rezultati liječenja transplantacijom ovisit će u velikoj mjeri o primarnom uzroku za transplantaciju.¹³ U *Tablici 1*. Navedene su najčešće indikacije i kontraindikacije za postupak transplantacije jetre prema Američkoj udruzi za jetrene bolesti (eng. *American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD*). Znamo da je medicina napredovala te da je suvremeno liječenje smanjilo postotak smrtnosti i povećalo šansu dobrog oporavka. Također, razvoj imunosupresivne terapije omogućio je bolju post-transplantacijasku njegu bolesnika, posebice onih kod kojih bi se javio problem odbacivanja novo-transplantiranog organa ili pak nastanak novog oboljenja jetre.

Tablica 1. Prikaz indiciranih i kontraindiciranih stanja za transplantaciju jetre²

INDIKACIJE	KONTRAINDIKACIJE
Ciroza Galopagirajuća nekroza jetre Hepatocelularni karcinom Bolesti koestaze Metaboličke bolesti Kolestatske i nekolestatske bolesti	intrakranijalni tlak (>40 mmHg) MELD<15 tlak perfuzije mozga (<60 mmHg) Alkoholizam ili druge ovisnosti Metastaziran karcinom Nekontrolirana sepsa

1.2. Rana disfunkcija presatka

Za vrijeme ili nakon transplantacije može doći do razvoja komplikacija koje najčešće rezultiraju lošom prognozom, bilo da se radi o duljem liječenju na odijelu intenzivne njege ili potrebe za retransplantacijom.⁹ Jedna od komplikacija jest primarna disfunkcija presatka koju možemo podijeliti na ranu disfunkciju presatka

(eng. *early allograft dysfunction, EAD*) kao pojam oslabljene funkcije s velikom predikcijom rane smrti ili odbacivanja transplantata unutar 90 dana od transplantacije i primarnu nefunkciju kao stanje katastrofalne funkcije koje najčešće znači potrebu za retransplantacijom (eng. *primary non-function, PNF*).^{3,4,5}

Ranu disfunkciju presatka nakon transplantacije je, u vrlo kratkom vremenskom periodu, teško predvidjeti jer ne postoji jedna uniformna definicija ovog stanja već različite definicije. Opisujemo ga na temelju predloženih definicija iz stručne literature uz pomoć dijagnostičkih kriterija i rizičnih čimbenika dobivenih usporedbom studija.⁶ Wagener i sur.⁷ ispitali su sposobnost laboratorijskih vrijednosti INR-a, bilirubina, AST-a, MELD-a te serumskog albumina prvih 7 dana nakon LT te su za definiciju za EAD, postavljene su sljedeće vrijednosti: (1) vršna vrijednost ukupnog bilirubina > 171 $\mu\text{mol/L}$ od 2.do 7.dana i/ili (2) ukupni bilirubin > 171 $\mu\text{mol/L}$ ili INR > 1.6 7.dan ili AST/ALT > 2000 IU/L u prvih 7 dana.

MELD je matematička jednadžba (*Tablica 2.*), postavljena 2002.godine koja nam omogućuje procjenu preživljenja pacijenata s posljednim stadijem bolesti jetre, a temelji se na tri laboratorijska parametra: bilirubin, kreatinin i PV-INR. Izračunom dobivamo brojčane vrijednosti koje tvore redoslijed kandidata na listi, procjenjujući mogućnost njihovog tromjesečnog preživljenja. Što je MELD vrijednost viša, preživljenje je kraće.⁶ Ovakvo rangiranje pacijenata zapravo je nužno budući da je pacijenata puno više u odnosu na dostupne transplantate. Transplantacija jetre isključivo je vitalna transplantacija jer ne postoji mehanička zamjena za jetru.¹⁸

Tablica 2. Jednadžba za izračunavanje MELD vrijednosti kod pacijenata u zadnjem stadiju bolesti jetre⁷

$$\text{MELD} = 9.57 \times \log(\text{kreatinin mg/dl}) + 3.78 \times \log(\text{bilirubin mg/dl}) + 11.20 \times \log(\text{INR}) + 6,43$$

MELD je, u odnosu na ostale laboratorijske vrijednosti ili definiciju EAD, bolji prediktor tromjesečnog mortaliteta ili gubitka transplantata kod pacijenata s transplantiranom jetrom.⁷

1.3. Uloga laboratorijske dijagnostike u transplantacijskoj medicini

Uloga kliničkog laboratorija u transplantacijskoj medicini vrlo je značajna u postupku kliničke procjene statusa primatelja i davatelja prije transplantacije, u praćenju statusa bolesnika tijekom transplantacije organa, praćenju funkcije organa i optimiziranju individualne terapije nakon transplantacije. U okviru KB Merkur provodi se transplantacija abdominalnih organa i krvotvornih matičnih stanica za koje se program općih, specijalističkih i visokodiferentnih biokemijskih, hematoloških, imunoloških i koagulacijskih laboratorijskih pretraga velikim dijelom provodi u Zavodu za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu KB Merkur, 2003.g. certificiranom prema normi ISO 9001 i 2007.g. akreditiranom prema normi ISO 15189:Medicinski laboratoriji - Posebni zahtjevi za kvalitetu i osposobljenost, za područja kliničke kemije, laboratorijske hematologije i koagulacije, laboratorijske imunologije-imunofenotipizacije stanica i molekularne dijagnostike.⁹

Prema politici Međunarodne organizacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu, (The International Federation of Clinical Chemical and Laboratory Medicine – IFCC)¹⁰ osnovna svrha akreditacije medicinskih laboratorija je rad prema najvišim stručnim standardima što je u interesu pacijenata i društva u cjelini jer se uspostavlja povjerenje u kvalitetu rezultata laboratorijskih pretraga i stvaraju preduvjeti za međulaboratorijsku usporedivost i prihvaćanje laboratorijskih nalaza na međunarodnoj razini. Hrvatska je 2007.godine postala punopravna članica međunarodne organizacije za razmjenu organa (Eurotransplant International Foundation, www.eurotransplant.org - EIF) čime je hrvatska transplantacijska medicina dokazala da ispunjava sve europske kriterije kvalitete u čemu je akreditacija laboratorijske dijagnostike prema međunarodnim standardima dala nesumnjiv doprinos.

Program laboratorijskih pretraga u predtransplantacijskom razdoblju ovisit će o vrsti presatka, pri čemu standardni panel uključuje rutinske biokemijske pretrage (elektroliti i acidobazna ravnoteža), biomarkere funkcije jetre (aspartat-aminotransferaza-AST, alanin-aminotransferaza-ALT, g-glutamil transferaza-GGT, bilirubin, albumin), funkcije bubrega (kreatinin, brzina glomerularne filtracije), koštani status (kalcij, magnezij, fosfati, alkalna fosfataza-ALP), lipidni status (kolesterol,

trigliceridi, HDL-kolesterol), homeostazu glukoze, kompletnu krvnu sliku i koagulacijski profil (protrombinsko vrijeme, aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, trombociti). Posebno se ističe uloga kliničkog laboratorija u intraoperativnom praćenju transplantacije jetre. Laboratorij mora osigurati brzo i učinkovito intraoperativno praćenje hematoloških pretraga i koagulacijskog statusa jer je to pomoć u otkrivanju uzroka mogućeg krvarenja i posljedičnih komplikacija tijekom transplantacije. U posttransplantacijskom razdoblju značenje laboratorijske dijagnostike najveće je u dijelu ranog praćenja funkcije transplantata, praćenja imunosupresivne terapije te razvoja mogućih komplikacija od kojih je najteža komplikacija reakcija odbacivanja transplantata. Uspješnost transplantacijskog liječenja zahtijeva multidisciplinarni pristup i stalnu suradnju i odgovornost brojnih kliničkih, ali i laboratorijskih struka: imunologije, transfuziologije, patologije, medicinske biokemije i drugih.¹¹

U Kliničkoj bolnici "Merkur", provode se sljedeće laboratorijske pretrage navedene u *Tablici 2.* prilikom obrade pacijenata za stavljanje na transplantacijsku listu uz ostale specifične pretrage izvan laboratorijske medicine.¹¹

Tablica 2. Laboratorijske pretraga kod pacijenata indiciranih za transplantaciju jetre, prilagođeno s [<http://www.kb-merkur.hr/merkur-odjeli-detaljno/centar-za-transplantaciju-soliddnih-organa>]¹¹

KKS			UREA		
SE			KREATININ		
K	PV	AST	KLIRENS	GUK	
Na	APTV	ALT	KREATININA ZA	HbA1c	
Cl	FIBRINOGENFe	GGT	BOLESNIKE	LIPIDOGRAM	URIN +
Ca	TIBC	AMILAZA	KOJI NISU NA	ELEKTROFOREZA	URINOKULTURA
PO4	UIBC FERITIN	ALP	DIJALIZI + 24h	SERUMSKIH	
Mg			PROTEINURIJA	BJELANČEVINA	
URATI			2x		
			ACIDOBAZNI		
			STATUS		

AST, ALT, GGT, ALP i bilirubin glavni su okusi našeg istraživanja. Njihove se koncentracije rutinski određuju laboratorijskim analizama u vidu transplantacijske medicine. U odnosu na druge metode procjene funkcije jetre, njihovo određivanje u serumu je pristupačnije, dobivene vrijednosti su reproducibilne, a sama metoda izvođenja je ne-invazivna. Karakteristični su za praćenje jetrene funkcije kod pacijenata indiciranih za transplantaciju jetre, no njihove abnormalne vrijednosti postaju značajne samo uz interpretaciju s ostalim podacima.

1.3.1. AST

Aminotransferaze (AST i ALT) su biomarkeri jetrenih bolesti koji se najčešće koriste i znak su hepatocelularnog oštećenja. Oba enzima se u najvećoj mjeri nalaze u staničnoj citoplazmi različitih tkiva, uključujući i jetru i obično se koriste kao općeniti markeri ozljede jetre za praćenje funkcije presatka nakon LT. Tijekom transplantacije dolazi do oštećenja hepatocita i unutarstanični enzimi se vrlo brzo otpuste u cirkulaciju primatelja što rezultira njihovim povišenim koncentracijama u serumu. Različite studije opisale su i dokazale povezanost povišenih posttransplantacijskih vrijednosti AST-a i ALT-a u serumu kao prediktore za PNF i EAD .^{14,21,22}

Umjereno povišene vrijednosti AST-a mogu se naći u bolestima koje prati nekroza jetrenih stanica, u kroničnom hepatitisu, cirozi jetre, holestatskoj i opstruktivnoj žutici, u alkoholnom oštećenju jetre. Ista aktivnost nalazi se u stanjima nekroze, upale ili traume srčanog ili skeletnih mišića i značajno je viša od vrijednosti ALT.²⁴

1.3.2. ALT

ALT je najzastupljeniji u citoplazmi jetrenih stanica, stoga se smatra specifičnim biljgom jetrenog oštećenja. Umjereno povišena aktivnost javlja se u stanjima začepjenja žučnih vodova i razvoja opstruktivne žutice, u cirozi, u bolesnika s tumorom jetre te u oštećenju jetre uzrokovanim kroničnim alkoholizmom²⁴.

1.3.3. GGT

Gama glutamil transferaza, GGT je membranski vezujući enzim koji je esencijalan za sintezu glutationa i ključ je oksidacije.²⁰ Zajedno s ALP-om se stvara u žuči te se smatra ranim markerom bilijarnog oštećenja .^{22,23} Povišena aktivnost GGT jedan

je od najosjetljivijih pokazatelja oboljenja žučnih vodova.²³ U kliničkoj praksi njegova povišena serumska vrijednost pokazatelj je jetrene bolesti, kao što je bilijarna opstrukcija, alkoholizmom uzrokovana bolest jetre ili zlouporaba droge.²⁰ Prema Alkozai i sur.²⁰ brzi postoperativni porast aktivnosti GGT-a može ukazivati na fiziološki sistemski odgovor na transplantaciju dok kronični porast znači patološki odgovor organizma.

1.3.4. ALP

ALP dio je obitelji cink metaloproteinaza, enzim koji katalizira hidrolizu fosfatnih estera u alkalnom pH u metabolizmu ugljikohidrata i fosfolipida.¹⁹ Prema Flegar-Meštrić i sur.²² visoke vrijednosti ALP, (ali i GGT-a), pokazatelj su hepatobilijarnog oštećenja s kolestazom i dijagnozom odbacivanja transplantata. Smatra se da je razlog povišene aktivnosti ALP u serumu bolesnika s jetrenim i bilijarnim oštećenjima povećana proizvodnja ovog enzima u jetri, a ne smanjena ekskrecijska sposobnost jetre.²³

1.3.5. UKUPNI BILIRUBIN

Ukupni bilirubin pokazatelj je ekskrecijske funkcije jetre i vrlo važan analit.²² Prema Naik i sur.²² visoke vrijednosti bilirubina odmah nakon LT mogu biti posljedica postojeće jetrene bolesti prije same transplantacije, ozljede tkiva prilikom transplantacije ili intraoperativne transfuzije krvi pa samim time njegove povećane vrijednosti neće imati dijagnostički značaj .

Smanjenje vrijednosti bilirubina znači ponovnu uspostavu procesa konjugacije i detoksifikacije u jetri i time znači dobro funkcioniranje presatka.²²

2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Od 1998.godine u Klinička bolnica "Merkur",provode se transplantacije organa. Zahvaljujući kontinuiranom porastu broja transplantacija Klinička bolnica Merkur se svrstala, i po broju transplantiranih organa i po uspješnosti transplantacijskog programa, među vodeće svjetske transplantacijske centre. Republika Hrvatska je posljednjih godina među prvim, ako ne i prva država u svijetu po broju iskorištenih donorskih organa i transplantacijskih postupaka. Taj uspjeh ponajprije duguje Kliničkoj bolnici Merkur koja je vodeći hrvatski centar za transplantaciju jetre i jedini hrvatski centar za simultanu transplantaciju gušterače i bubrega, a bilježi se i kontinuirani porast broja transplantacija bubrega.¹⁶ 2015.godine otvoren je novo-uređeni Centar za transplantaciju solidnih organa u svrhu poboljšanja uvjeta rada i unaprijeđenja skrbi za pacijente. Danas se u Kliničkoj bolnici "Merkur",obavlja preko 90% transplantacija jetre u RH uz izvrsne pokazatelje ishoda liječenja (5-godišnje preživljenje pacijenata s transplantiranom jetrom iznosi 79%).¹² Godišnje preživljenje u Kliničkoj bolnici "Merkur",je oko 85% što je bolji rezultat od prosjeka Europskog registra za transplantaciju jetre (eng. *European Liver Transplant Registry*, ELTR). Prema broju transplantacija jetre na milijun stanovnika, Hrvatska je danas među najboljima, a u 2010. godini bila je prva u svijetu, a sve zahvaljujući napretku transplantacijske medicine.^{1,12}

Kako bi rezultati liječenja bili još bolji, važna je dobra suradnja kliničara i medicinskog biokemičara koji provođenjem specifičnih laboratorijskih pretraga može uvelike pomoći u ranoj predikciji uspješnosti transplantacije. Iako je napredkom imunosupresivne terapije napredovala i medicina, svejedno je odbacivanje transplantata jetre nakon transplantacije i dalje značajan uzrok mortaliteta. Stoga smo, ovim istraživanjem htjeli doznati na osnovi praćenja kojih laboratorijskih parametara, važnih za normalnu funkciju jetre, možemo predvidjeti rani ishod transplantacije kako bi spriječili razvoj komplikacija. Trenutni nedostatak saznanja o ranim postoperativnim parametrima koji bi nam mogli poslužiti kao dobar indikator rane procjene funkcije presatka ili potrebe za retransplantacijom potaknule su nas na izradu ovog rada.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi mogućnosti predikcije rane disfunkcije presatka kod bolesnika s transplantranom jetrom upotrebom rutinskih laboratorijskih pretraga, dakle, utvrditi ulogu laboratorijskih pretraga u predikciji rane smrti ili odbacivanja transplantata u dijagnostici rane povezanosti značajnih laboratorijskih parametara u dijagnostici jetrenih bolesti te ih primijeniti na pacijente kojima je transplantirana jetra kako bismo u ranoj postoperativnoj fazi oporavka predvidjeli uspješnost zahvata.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. ISPITANICI

Naše istraživanje je retrospektivno istraživanje u kojem su analizirani rezultati laboratorijskih pretraga u prvom tjednu nakon transplantacije jetre kod 31 pacijenta (40 kliničkih slučajeva transplantacija jetre) s ranom disfunkcijom presatka i kod 39 pacijenata bez disfunkcije presatka s dvogodišnjim preživljenjem presatka nakon prve transplantacije jetre. Ispitivanje je provedeno na pacijentima s transplantiranom jetrom u razdoblju od 01.07.2014.-31.12.2016.

Prvu skupinu činili su pacijenti bez disfunkcije presatka i minimalnim dvogodišnjim preživljenjem primarnog presatka. Drugu skupinu činili su pacijenti s ranom disfunkcijom presatka koja je uzrokovala retransplantaciju ili smrt pacijenta unutar 90 dana.

Svakom ispitaniku pridružene su vrijednosti ovih 5 parametara i to nulti dan (prije transplantacije/retransplantacije) te od 1.-7.dana nakon transplantacije/retransplantacije unešenih u računalni program *Excell* 2010, Microsoft office (Microsoft USA) po navedenim skupinama.

Tablica 3. Osnovne demografske i kliničke značajke ispitanika s ranim odbacivanjem presatka i ispitanika bez znakova odbacivanja i preživljenjem presatka >24 mjeseca .

Varijable	ispitanici s preživljenjem presatka		
	>24 mjeseca (n=39)	<3 mjeseca (n=40)	P
Dob (godine), srednja vrijednost ± standardna devijacija	53,64 ± 9,63	59,45±9,96	0,0011
Muški spol, n (%)	27 (69,23%)	29 (72,5%)	>0,05
Kliničke dijagnoze			
Alkoholna bolest jetre, n (%)	14 (35%)	9 (23,1%)	>0,05
Virusni hepatitis, n (%)	1 (2,5%)	9 (23,1%)	<0,05
Hepatocelularni karcinom, n (%)	4 (5%)	0 (0%)	<0,05
Ciroza, n (%)	16 (42,5%)	4 (10,2%)	<0,05
Primarna disfunkcija presatka	0 (0%)	2 (5%)	<0,05
Tromboza jetrene arterije	0 (0%)	5 (12,5%)	<0,05
Ostale dijagnoze, n (%)	4 (10,2%)	11 (27,5 %)	>0,05
Ishod			
Prva retransplantacija, n (%)	0 (0%)	11 (28,2%)	<0,05
Druga retransplantacija, n (%)	0 (0%)	4 (10,2%)	<0,05
Smrt pacijenta, n (%)	0 (0%)	25 (62,5%)	<0,05

2.1. METODE ODREĐIVANJA AST-a, ALT-a, GGT-a, ALP-a i ukupnog BILIRUBINA

Primarni uzorci za za biokemijske pretrage uzimali su se u standardizirane epruvete s podtlakom za biokemijske pretrage/serum (bez antikoagulansa; crveni čep) bez polistirenske smole za odjeljivanje seruma od stanica. Centrifugiranje uzoraka za biokemijske pretrage provodilo se najmanje 30 minuta nakon uzorkovanja, 10 min na 3500 okretaja u minuti. Koncentracije AST, ALT, GGT, ALP i ukupnog bilirubina određene su isti dan na selektivnom biokemijskom analizatoru Beckman Coulter AU680 u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Kliničke bolnice “Mercur”, Zagreb.

Sve metode korištene u ovom istraživanju akreditirane prema međunarodnoj normi: HRN EN ISO 15189: Medicinski laboratoriji – Zahtjevi za kvalitetu i osposobljenost (prilog potvrdi o akreditaciji).¹⁷

Analitička potvrda dobivenih rezultata provodila se redovitim sudjelovanjem u organiziranim shemama vanjske procjene kvalitete u organizaciji Hrvatskog centra za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini (CROQALM), Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (HDMBLM) i neovisnog međunarodnog organizatora «Labquality –WHO Collaborating Centre for Education and Training in Laboratory Quality Assurance», Helsinki, Finska. Varijabilnost dobivenih rezultata iskazana je kao proširena mjerna nesigurnost uz obuhvatni faktor $k=2$, sa vjerojatnosti od 95% (vidi popis akreditiranih pretraga i metoda).

Koncentracije AST-a određene su kinetičkom spektrofotometrijska UV metodom primjenom reagensa AST, OSR 6209 uz dodatak piridoksal fosfata (engl. Pyridoxal Phosphate Liquid reagent), kat br. 60106, tvrtke Beckman Coulter (O'Callaghans Mill Co.Clare, Irska). Metoda je temeljena na preporukama Međunarodne federacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu (eng. International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC), a vrijednosti AST-a dobivene ovom metodom sljedive su prema IFCC referentnoj metodi.

Načelo metode: AST katalizira transaminaciju aspartata i 2-oksoglutarata stvarajući L-glutamat i oksalacetat. Dodavanje piridoksal fosfata reakcijskoj smjesi jamči maksimalnu katalitičku aktivnost AST-a. Oksalacetat se reducira L-malat-dehidrogenazom (MDH) u L-malat a NADH se istovremeno pretvara u NAD⁺. Smanjenje apsorpcije zbog potrošnje NADH-a mjeri se spektrofotometrijski pri 340 nm i proporcionalno je aktivnosti AST-a u uzorku. Endogeni piruvat uklanja se uz enzim LD tijekom razdoblja inkubacije.

Koncentracije ALT-a određene su kinetičkom spektrofotometrijskom UV metodom za kvantitativno određivanje katalitičke koncentracije enzima alanin-aminotransferaze, ALT (EC 2.6.12) u serumu.

Načelo metode: Metoda je bazirana na preporukama IFCC-a. ALT katalizira prijenos aminogrupe iz alanina u 2-oksoglutarat pri čemu se svara piruvat i glutamat.

Dodavanje piridoksal-fosfata reakcijskoj smjesi doprinosi maksimalnoj katalitičkoj aktivnosti ALT.

Piruvat ulazi u reakciju kataliziranu laktat-dehidrogenazom (LD) s NADH-om pri čemu se stvara laktat i NAD⁺. Smanjenje apsorpcije svjetla zbog potrošnje NADH mjeri se pri 340 nm i proporcionalno je aktivnosti ALT u uzorku. Endogeni piruvat uklanja se tijekom razdoblja inkubacije. Analiza koristi reagens Beckman Coulter, ALT, kataloške oznake OSR6007 ili OSR 6107 ili OSR 6507 - reagens Beckman Coulter Pyridoxal Phosphate Liquid reagent, kat br. 60106.

Koncentracije GGT-a određene su Fotometrijskom „kontinuiranom“, IFCC metodom. Metoda bazirana na preporukama »International Federation for Clinical Chemistry« (Međunarodna federacija za kliničku kemiju IFCC).

Načelo metode: GGT katalizira prijenos gamaglutamila iz supstrata, gama-glutamil-3-karboksi-4-nitroanlida, na glicilglicin, te daje 5-amino-2-nitrobenzoat. Do promjene u apsorpciji pri 410/480 nm dolazi zbog formiranja 5-amino-2-benzoata i izravno je proporcionalna aktivnosti GGT-a u uzorku. Analiza koristi reagens Beckman Coulter, kataloške oznake OSR6020/OSR6120/OSR6520 za GGT. Vrijednost kalibratora sljediva je prema IFCC referentnoj metodi i IRMM/IFCC-42.

Koncentracije ALP-a određene su fotometrijskom kontinuiranom, IFCC metodom.

Načelo metode: Aktivnost alkalne fosfataze određuje se mjerenjem raspona konverzije p-nitrofenil fosfata (pNPP) u p-nitrofenol (pNP) u prisutnosti iona magnezija i cinka te 2-amino-2-metil-1-propanola (AMP) kao akceptora fosfataze pri pH 10,4. Brzina promjene u apsorpciji zbog formiranja pNP-a mjeri se bikromatski pri 410/480 nm i izravno je proporcionalna aktivnosti ALP-a u uzorku. Analiza koristi reagens Beckman Coulter, kataloškog broja OSR6104 ALP. Vrijednost kalibratora sljediva je prema kalibratoru proizvođača, Olympus Master Calibratoru.

Koncentracije ukupnog bilirubina određene su fotometrijskom metodom s 3,5-diklorfenil-diazonium-tetrafluorboratom (DPD).

Načelo metode: Stabilizirana diazonijeva sol, 3,5-diklorfenil-diazonij-tetrafluorborat (DPD), u reakciji s konjugiranim bilirubinom izra-vno, a sa

nekonjugiranim bilirubinom u prisutnosti akcelatora daje azobilirubin. Apsorpcija na 540 nm proporcionalna je ukupnoj koncentraciji bilirubina. Da bi se smanjile endogene interferencije seruma, provodi se zasebni test slijepe probe. Analiza koristi reagens Beckman Coulter, OSR6112/OSR6212 TOTAL BILIRUBIN (za ukupni bilirubin). Vrijednosti kalibratora ukupnog bilirubina sljedive su prema standardnom referentnom materijalu (*Standard Reference Material – SRM*) 916a Nacionalnog instituta za standarde i tehnologiju (*National Institute of Standards and Technology – NIST*). Rezultati se iskazuju u $\mu\text{mol/L}$.

U Tablici 4. Sažeto su prikazane laboratorijske pretrage ovog istraživanja i pripadajuće metode zajedno sa referentnim intervalima i izraženim mjernim nesigurnostima (razine 1 i 2) kod pojedinog laboratorijskog parametra.

Tablica 4. Prikaz laboratorijski parametara (AST,ALT,GGT,ALP i ukupni bilirubin) zajedno s odgovarajućim metodama, referentnim intervalima te mjernim nesigurnostima, prilagođeno prema

Pretraga	Metoda	Referentni interval za odrasle	Mjerna ne-sigurnost	
			Razina 1	Razina 2
Aspartat-aminotransferaza (AST) (EC 2.6.1.1)	Fotometrijska UV metoda s piridoksal-fosfatom (IFCC metoda)	M i Ž (18-85g): 11-34 U/L	±7,2 %	±5,6%
Alanin-aminotransferaza (ALT) (EC 2.6.1.2)	Fotometrijska UV metoda s piridoksal-fosfatom (IFCC metoda)	M (18-85g):9-59 U/L Ž (18-85g):8-41 U/L	±9,4%	±7,2%
γ-glutamilttransferaza (GGT) (EC 2.3.2.2)	Fotometrijska metoda (IFCC metoda)	M(>20g):11-55 U/L Ž(>20g):9-35 U/L	±4,6%	±4,5%
Alkalna fosfataza (ALP)	Fotometrija metoda (IFCC metoda)	M: 60-142 U/L Ž (20-50g):54-119 U/L Ž (>50g):64-153 U/L	±10,7%	±10,0%
Bilirubin-ukupni	Fotometrijska metoda s 3,5-diklorfenil-diazoniumtetrafluoroboratom (DPD)	M i Ž (>20g):3-20 $\mu\text{mol/L}$	±8,2%	±5,9%

2.1. STATISTIČKE METODE

Upotrebom Kolmogorov-Smirovljevog testa testirana je normalnost distribucije podataka. Rezultati su prikazani parametrima deskriptivne statistike: izmjerene vrijednosti kvantitativnih varijabli su prikazane aritmetičkim sredinama i standardnim devijacijama, medijanama, te interkvartilnim rasponom između prvog i trećeg kvartila. Vrijednosti kvalitativnih varijabli su prikazane apsolutnim i relativnim frekvencijama.

Za određivanje statistički značajnih razlika između skupina korišten je parametrijski Studentov t-test ili neparametrijski testovi Mann Whitneyev test. Raspodjela vrijednosti kvalitativnih varijabli između skupina testirana je X^2 testom. ROC analiza (eng. *Receiver Operating Characteristic Curve*) primijenila se za izračunavanje pokazatelja dijagnostičke valjanosti pretraga koje su se statistički značajno razlikovale između istraživanih skupina. Za dobivene ROC krivulje izračunata je vrijednost površine ispod krivulje AUC (eng. *Area Under Curve*), kako bi se odredila diskriminirajuća snaga (dijagnostička osjetljivost i specifičnost) između pacijenata s ranim odbacivanjem presatka i pacijenata s dvogodišnjim preživljenjem presatka nakon primarne transplantacije jetre. Rezultati su tumačeni uz najvišu prihvatljivu razinu značajnosti $P=0,05$. Obrada podataka obavljena je u programu za statističku obradu MedCalc (verzija 17.4.4, Medisoftware, Mariakerke, Belgium).

3. REZULTATI

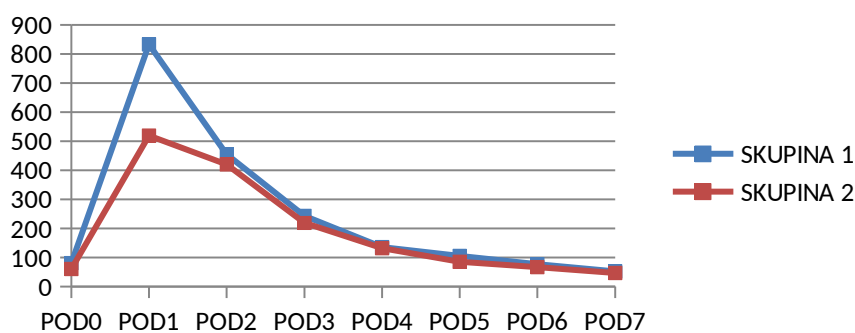
3.1. Rezultati statističke obrade podataka za AST

Statističkom analizom podataka, za AST dobivene su vrijednosti navedene u *Tablici 5.* te grafički prikazane u odnosu na postoperativne dane (POD0-POD7) *Slikom 1.*

Tablica 5. Koncentracije AST (U/L) u serumu ispitanika s ranim odbacivanjem presatka i ispitanika bez znakova odbacivanja i preživljenjem presatka >24 mjeseca

Vrijeme određivanja	Ispitanici s preživljenjem presatka		P
	<3 mjeseca (n=40)	>24 mjeseca (n=39)	
POD0	81 (43-298)	61 (53 – 77)	0,2918
POD1	833 (409 -1560)	519 (380-929)	0,0844
POD2	455 (290-1088)	420 (270 -1045)	0,5335
POD3	243 (145-520)	219 (111-478)	0,6101
POD4	136 (62-433)	132 (80-207)	0,6967
POD5.	106 (47-272)	85 (66-125)	0,8947
POD6	77 (34-173)	67 (48-102)	0,8947
POD7	52 (30-133)	47 (35-69)	0,7724

Mann-Whitney test; rezultati su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon)



Slika 1. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije AST-a po skupinama 1 i 2 o postoperativnim danima

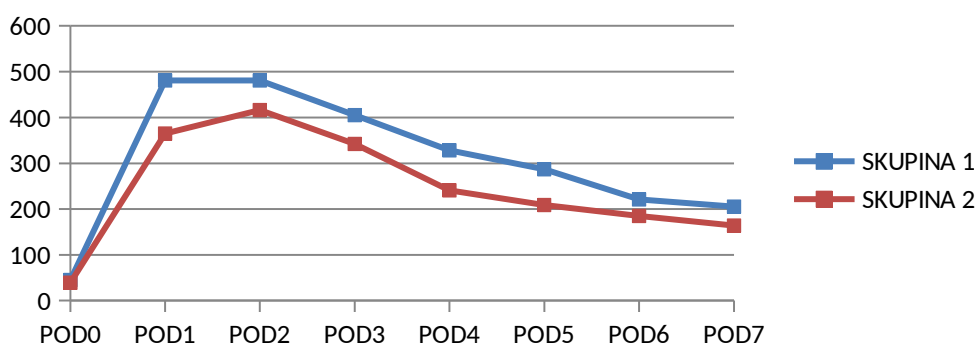
3.2. Rezultati statističke obrade podataka za ALT

Statističkom analizom podataka, za AST dobivene su vrijednosti navedene u *Tablici 6.* te grafički prikazane u odnosu na postoperativne dane (POD0-POD7) *Slikom 2* i *Slikom 3* za statistički značajan POD2.

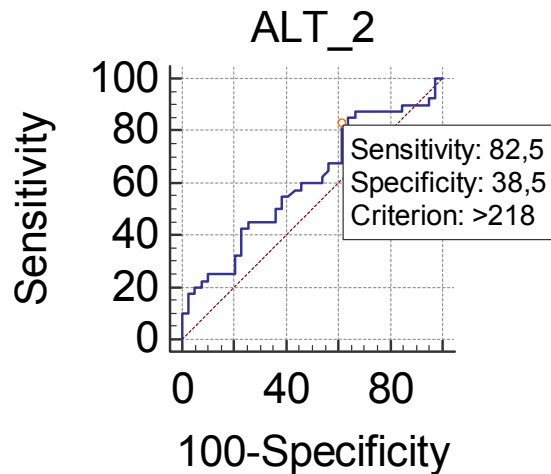
Tablica 6. Koncentracije ALT (U/L) u serumu ispitanika s ranim odbacivanjem presatka i ispitanika bez znakova odbacivanja i preživljenjem presatka >24 mjeseca

Vrijeme određivanja	Ispitanici s preživljenjem presatka		P
	<3 mjeseca (n=40)	>24 mjeseca (n=39)	
POD0	45 (27-350)	39 (30-86)	0,2764
POD1	481 (290 -777)	365 (170 - 562)	0,0465
POD2	481 (273-937)	416 (182-601)	0,1122
POD3	405 (210-888)	342 8156-580)	0,1144
POD4	328 (162-642)	241 (134-416)	0,1698
POD5.	287 (122-468)	209 (133-355)	0,3415
POD6	221 (90-416)	185 (106-298)	0,5112
POD7	205 (70-366)	164 (97-263)	0,6484

Mann-Whitney test; rezultati su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon)



Slika 2. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije ALT-a po skupinama 1 i 2 o postoperativnim danima



Slika 3. Grafički prikaz dobivene ROC krivulje za AST u POD2 s pripadajućom osjetljivosti i specifičnosti

Area under the ROC curve (AUC)

Area under the ROC curve (AUC)	0,604
Standard Error ^a	0,0643
95% Confidence interval ^b	0,487 to 0,712
z statistic	1,615
Significance level P (Area=0.5)	0,1064

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

Youden index

Youden index J	0,2096
Associated criterion	>218
Sensitivity	82,50
Specificity	38,46

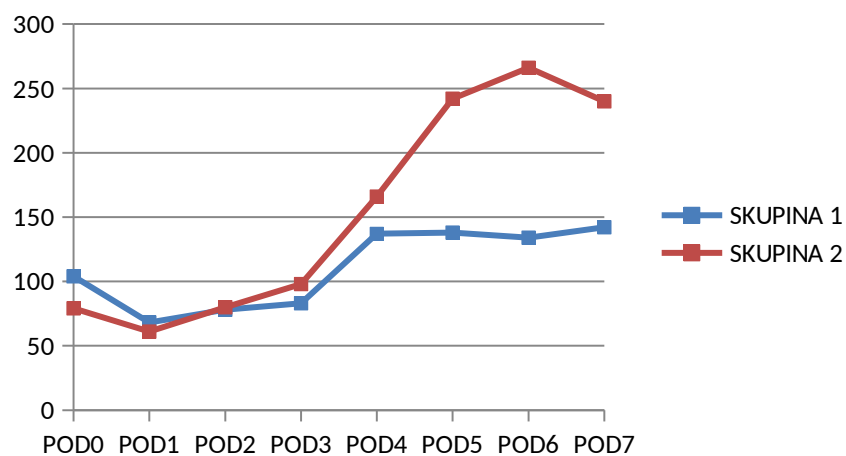
3.3. Rezultati statističke obrade podataka za GGT

Statističkom analizom podataka, za AST dobivene su vrijednosti navedene u *Tablici 7.* te grafički prikazane u odnosu na postoperativne dane (POD0-POD7) *Slikom 4, Slikom 5, Slikom 6, Slikom 7 i Slikom 8* za statistički značajne POD4, POD5, POD6 i POD7.

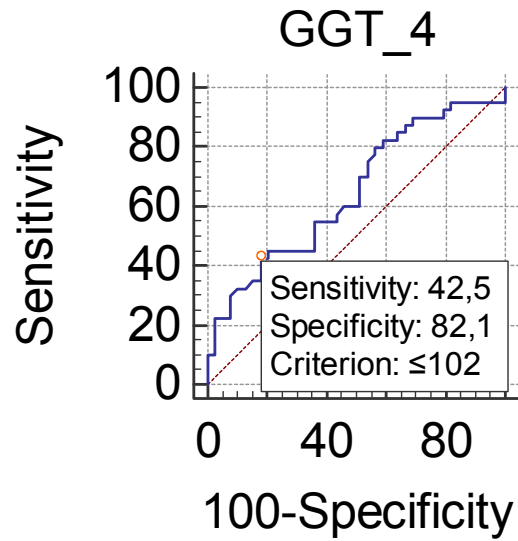
Tablica 7. Koncentracije GGT (U/L) u serumu ispitanika s ranim odbacivanjem presatka i ispitanika bez znakova odbacivanja i preživljenjem presatka >24 mjeseca

Vrijeme određivanja	Ispitanici s preživljenjem presatka		P
	<3 mjeseca (n=40)	>24 mjeseca (n=39)	
POD0	104 (44-184)	79 (40-169)	0,4185
POD1	68 (41-109)	61 (46-78)	0,5530
POD2	78 (44-132)	80 (58-109)	0,6949
POD3	83 (54-148)	98 (65-141)	0,2166
POD4	137 (72-188)	166 (118-304)	0,0241
POD5	138 (105-233)	242 (148-377)	0,0030
POD6	134 (98-272)	266 (157-487)	0,0007
POD7	142 (98-243)	240 (151-470)	0,0006

Mann-Whitney test; rezultati su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon)



Slika 4. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije GGT-a po skupinama 1 i 2 o postoperativnim danima



Slika 5. Grafički prikaz dobivene ROC krivulje za GGT u POD4 s pripadajućom osjetljivošću i specifičnošću

Area under the ROC curve (AUC)

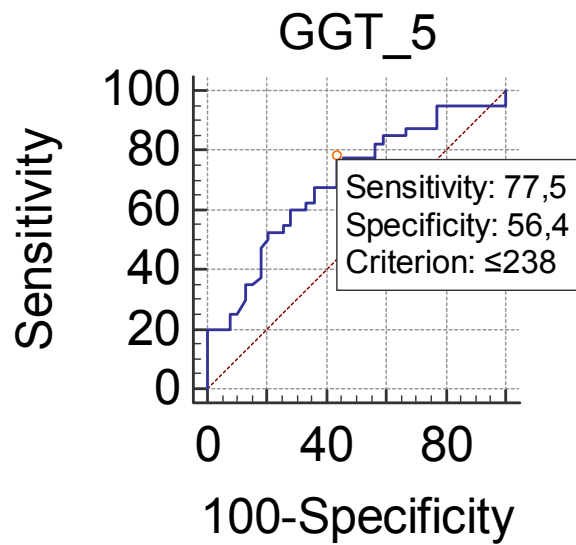
Area under the ROC curve (AUC)	0,647
Standard Error ^a	0,0622
95% Confidence interval ^b	0,532 to 0,752
z statistic	2,369
Significance level P (Area=0.5)	0,0178

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

Youden index

Youden index J	0,2455
Associated criterion	≤102
Sensitivity	42,50
Specificity	82,05



Slika 6. Grafički prikaz dobivene ROC krivulje za GGT u POD5 s pripadajućom osjetljivošću i specifičnošću

Area under the ROC curve (AUC)

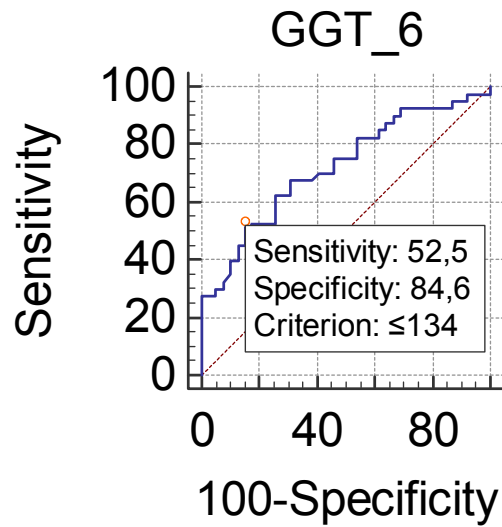
Area under the ROC curve (AUC)	0,694
Standard Error ^a	0,0597
95% Confidence interval ^b	0,580 to 0,793
z statistic	3,251
Significance level P (Area=0.5)	0,0011

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

Youden index

Youden index J	0,3391
Associated criterion	≤238
Sensitivity	77,50
Specificity	56,41



Slika 7. Grafički prikaz dobivene ROC krivulje za GGT u POD6 s pripadajućom osjetljivošću i specifičnošću

Area under the ROC curve (AUC)

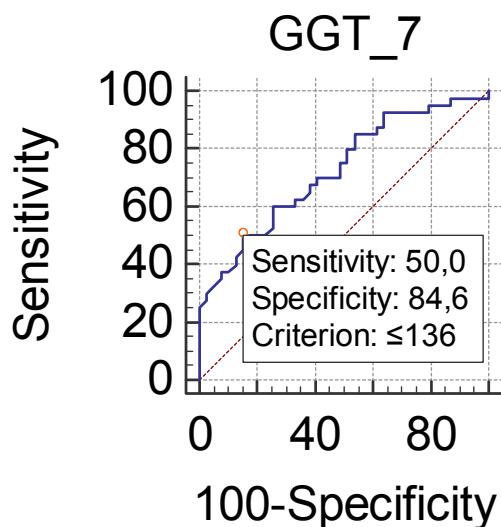
Area under the ROC curve (AUC)	0,722
Standard Error ^a	0,0574
95% Confidence interval ^b	0,610 to 0,817
z statistic	3,861
Significance level P (Area=0.5)	0,0001

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

Youden index

Youden index J	0,3712
Associated criterion	≤134
Sensitivity	52,50
Specificity	84,62



Slika 8. Grafički prikaz dobivene ROC krivulje za GGT u POD7 s pripadajućom osjetljivošću i specifičnošću

Area under the ROC curve (AUC)

Area under the ROC curve (AUC)	0,723
Standard Error ^a	0,0569
95% Confidence interval ^b	0,611 to 0,818
z statistic	3,929
Significance level P (Area=0.5)	0,0001

^a DeLong et al., 1988

^b Binomial exact

Youden index

Youden index J	0,3462
Associated criterion	≤136
Sensitivity	50,00
Specificity	84,62

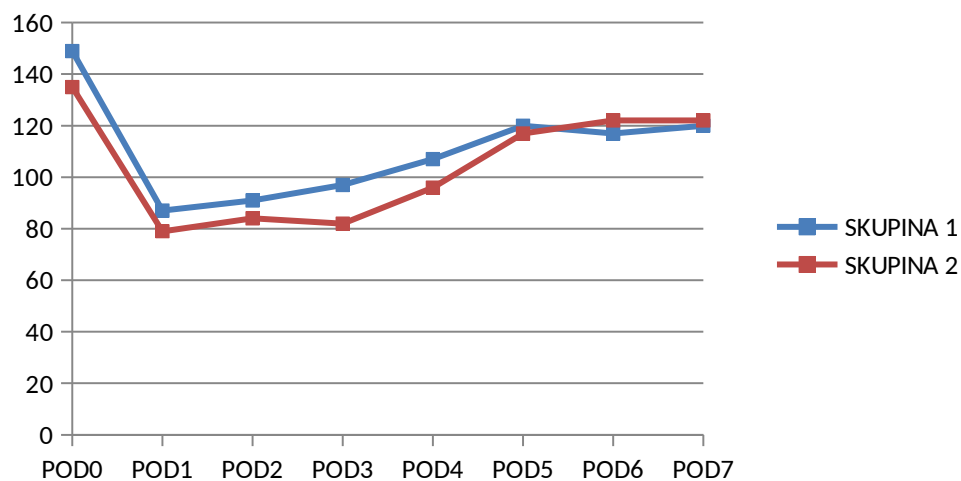
3.4. Rezultati statističke obrade podataka za ALP

Statističkom analizom podataka, za ALP dobivene su vrijednosti navedene u *Tablici 8.* te grafički prikazane u odnosu na postoperativne dane (POD0-POD7).

Tablica 8. Koncentracije ALP (U/L) u serumu ispitanika s ranim odbacivanjem presatka i ispitanika bez znakova odbacivanja i preživljenjem presatka >24 mjeseca

Vrijeme određivanja	Ispitanici s preživljenjem presatka		P
	<3 mjeseca (n=40)	>24 mjeseca (n=39)	
POD0	149 (94-272)	135 (102-204)	0,6555
POD1	87 (60-183)	79 (70-106)	0,5896
POD2	91 (77-175)	84 (70-104)	0,1608
POD3	97 (67-154)	82 (65-118)	0,1361
POD4	107 (83-165)	96 (76-155)	0,2657
POD5.	120 (86-165)	117 (81-173)	0,6877
POD6	117 (78-168)	122 (82-181)	0,8299
POD7	120 (86-163)	122 (83-201)	0,8484

Mann-Whitney test; rezultati su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon)



Slika 9. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije ALP-a po skupinama 1 i 2 o postoperativnim danima

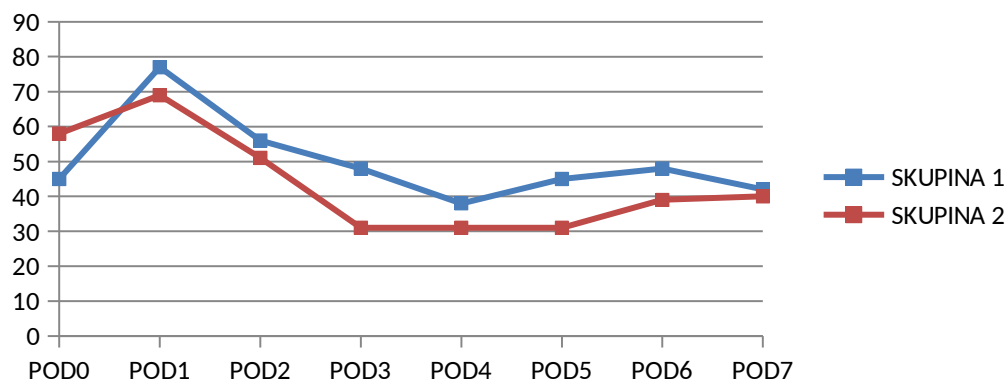
3.5. Rezultati statističke obrade podataka za ukupni bilirubin

Statističkom analizom podataka, za ukupni bilirubin dobivene su vrijednosti navedene u *Tablici 9.* te grafički prikazane (*Slika 10.*) u odnosu na postoperativne dane (POD0-POD7).

Tablica 9. Koncentracije ukupnog bilirubina ($\mu\text{mol/L}$) u serumu ispitanika s ranim odbacivanjem presatka i ispitanika bez znakova odbacivanja i preživljenjem presatka >24 mjeseca

Vrijeme određivanja	Ispitanici s preživljenjem presatka		P
	<3 mjeseca (n=40)	>24 mjeseca (n=39)	
POD0	45 (24-128)	58 (23-197)	0,7950
POD1	77 (43-105)	69 (46-96)	0,6769
POD2	56 (38-110)	51 (30-78)	0,4018
POD3	48 (21-93)	31 (22-63)	0,2738
POD4	38 (19-81)	31 (21-63)	0,6284
POD5	45 (21-83)	31 (24-62)	0,4893
POD6	48 (22-72)	39 (21-64)	0,6840
POD7	42 (22-74)	40 (23-69)	0,7388

Mann-Whitney test; rezultati su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon)



Slika 10. Grafički prikaz ovisnosti koncentracije ukupnog bilirubina po skupinama 1 i 2 o postoperativnim danima

4. RASPRAVA

Transplantacija jetre je vitalna transplantacija jer ne postoji mehanička zamjena za funkcionirajuću jetru.¹ Ona se nameće kao esencijalno rješenje u terapiji akutnog ili kroničnog zatajenja jetre te je to ponekad i jedina metoda liječenja za pacijente u završnom stadiju bolesti jetre. Nažalost, za vrijeme ili nakon transplantacije može doći do razvoja komplikacija koje najčešće rezultiraju odbacivanjem transplantata i lošom prognozom. Mnogo je različitih istraživanja pokušavalo, panelom rutinskih pretraga za procjenu jetrene funkcije, pokazati da upravo oni mogu biti važni i pouzdani prediktori rane disfunkcije jetre. Potreba za rutinskim i uvijek spremnim laboratorijskim pokazateljima, koji će predvidjeti rane postoperativne komplikacije, sve je veća, ali i dalje teška za interpretirati.²¹ Naše istraživanje pokazuje da se preživljenje pacijenta i jetrenog presatka unutar 90 dana od transplantacije jetre, može predvidjeti s dobrom preciznošću laboratorijskih pokazatelja u prvom postoperativnom tjednu nakon transplantacije jetre.

Prema Shahidi i sur.²¹, GGT privlači sve više pozornost znanstvenika kao potencijalni dijagnostički prediktivni čimbenik komplikacija nakon transplantacija jetre poput akutnog odbacivanja, žučnih komplikacija ili ponavljajuće primarne bolesti jetre

Statistički značajna razlika našeg istraživanja, između prve skupine ispitanika, kod kojih je preživljenje dulje od 30 mjeseci bez potrebe za retransplantacijom i druge skupine ispitanika, s ranom disfunkcijom presatka koja je uzrokovala retransplantaciju ili smrt pacijenta unutar 90 dana, pronađena je u 4., 5., 6., te 7. postoperativnom danu. (*Tablica 7.*)

Vrijednosti serumskog GGT-a i ALP-a mogu biti povezane s korničnim imunim oštećenjem transplantirane jetre. Serumski GGT i ALP koriste se kao rani, neinvazivni markeri za dijagnozu žučnih komplikacija nakon LT. Međutim, laboratorijski testovi mogu ukazati na postojanje problema, ali ne i koji je problem u pitanju te su abnormalne vrijednosti značajne samo u korelaciji s drugim kliničkim vrijednostima.

Prema Shahidi i sur.²¹ dokazuju značajnost ALP-a i GGT-a kao prognostičkih markera. Naš rad pokazuje da ALP ne pokazuje dijagnostički značajnu prediktivnu vrijednost za razliku od GGT-a za POD4, POD5, a najviše na POD 6 i POD7.

Za POD6 i POD7 statističkom analizom određena je dijagnostička specifičnost i osjetljivost GGT-a, a dobivene rezultate možemo tumačiti na način da GGT u POD6 i

POD7 ima klinički značajnu prediktivnu moć u predikciji rane disfunkcije presatka. (Slika 5, Slika 6, Slika 7., Slika 8.)

Hickman i sur.²⁴ pokazuju da GGT postiže vršnu vrijednost 2-3 puta veću od normalne na POD3 i POD4 te da nastavlja tendenciju rasta gdje na POD11 dostiže 6 puta veću vrijednost od normalne. Naša studija dobila je slične rezultate gdje aktivnost GGT-a počinje rasti na POD4 i postiže najvišu vrijednost na POD6 u drugoj skupini ispitanika čija je konačna dijagnoza bila potreba za retransplantacijom ili smrtni ishod u vremenskom razmaku manjem od 2 godine od transplantacije.

Zato bismo mogli zaključiti kako GGT ima ulogu u predikciji rane disfunkcije jetre, u smislu da povišene vrijednosti bez tendencije smanjenja u prvom postoperativnom tjednu znače veću smrtnost unutar 90 dana nakon transplantacije. Dobivene vršne koncentracije izrazili smo medijanima za POD6 i POD7 te oni iznose 266 (157- 487) za POD6 i 240 (151-470) za POD7, a dobiveni su Mann-Whitney-evim testom.

Hickman i sur. nije opazio nikakvu značajnu promjenu u vrijednostima ALP-a do POD9, nakon čega ALP kontinuirano raste. Shahidi i sur.²¹ također ne zapažaju rast vrijednosti ALP-a sve do POD11 nakon kojeg ALP raste ukazujući na pogoršanje jetrene funkcije. Naš rad pokazuje sličan trend ALP vrijednosti, bez značajnijih promjena porasta, a i s obzirom da smo se ograničili na prvih 7 dana nakon operacije, zapažamo samo blagi trend rasta, ali ne i značajniji skok u porastu ALP vrijednosti.

Transaminaze odražavaju zdravlje i integritet jetrenih stanica. Prema Shahidi i sur.²¹ povišene vrijednosti nisu prognostički indikatori odbacivanja transplantata odmah nakon LT. Rani porast transaminaznih vrijednosti u serumu mogu ukazivati na oštećenje donorskog organa zadobivenog prilikom njegovog uklanjanja od donora te transporta/prijenosa do primatelja te same transplantacije.^{20,22}

Wagener i sur.⁷ pokazuje da su pokazatelji hepatocelularnog oštećenja poput AST-a i ALT- a samo slabi prediktivni pokazatelji čak i odmah nakon LT. Naš rad pokazuje sličan rezultat. Prema Wagener i sur.⁷ Pokazane su značajne prediktivne vrijednosti ALT-a na POD 2, POD3, POD4 i POD5 dok je naš ALT pokazao statistički značajnu razliku među skupinama na POD2 ($p=0,0465$), ali bez dovoljno velike moći u predikciji rane disfunkcije jetre. Zbog toga nam njegova dijagnostička specifičnost i osjetljivost nije klinički značajna.

Prema Robertsonu¹⁴ POD1 nije bio indiciran za ranu disfunkciju presatka kako je pokazano i našom studijom. Međutim, AST je na POD3 pokazao snažnu prediktivnu vrijednost za ranu disfunkciju presatka dok ALT nije. AST na POD3 te AST i ALT na POD7 su prediktori rane (unutar 90 dana) disfunkcije presatka prema istim autorima rada. Za POD1 i POD2 AST-a i ALT-a dobili smo najviše vrijednosti izražene medijanima (*Tablica 5. i Tablica 6.*) i to za prvu skupinu ispitanika čije su vrijednosti za navedene dane bile više.

Prema Naik i sur.¹⁸ Smanjenje vrijednosti bilirubina znači ponovnu uspostavu procesa konjugacije i detoksifikacije u jetri i time znači dobro funkcioniranje presatka. Naši rezultati pokazuju tendenciju smanjenja vrijednosti prikazane grafom na *Slici 10.*, ali bez statistički značajne razlike među skupinama zbog čega bilirubin u ovom radu nije prediktivni čimbenik rane disfunkcije jetre.

5. ZAKLJUČAK

1. Pokazana je prognostička vrijednost GGT-a u predikciji rane retransplantacije presatka kod pacijenata s transplantiranom jetrom u 4., 5., 6. i 7. postoperativnom danu. Dijagnostička značajna specifičnost i osjetljivost u POD6 i POD7 svrstava GGT među prediktivne čimbenike u ranoj disfunkciji presatka (unutar 90 dana od transplantacije).
2. ALT u POD2 pokazuje statističku značajnu razliku među skupinama, no njegova dijagnostička specifičnost i osjetljivost nije dovoljno značajna da bi govorili o ALT-u kao prediktivnom čimbeniku rane disfunkcije jetre.
3. AST, ukupni bilirubin i ALP ne pokazuju statističku značajnu razliku među skupinama u prvom postoperativnom tjednu nakon LT.

5. ZAHVALE

Zahvaljujemo se mentorici, prof. dr. sc. Zlati Flegar-Meštrić što nam je dala priliku da u vidu znanstvenog istraživanja budemo bogatije za jedno vrijedno iskustvo te dr.sc. Sonje Perkov, spec.med.biokemije, na ukazanom povjerenju i strpljenju te svim savjetima i pruženoj pomoći tijekom eksperimentalnog rada kao i samog pisanja ovoga rada.

6. LITERATURA

1. Branislav Kocman, Damir Jemendžić, Stipislav Jadrijević, Tajana Filipec-Kanižaj, Danko Mikulić, Mirko Poljak (2011) Kirurški aspekti transplantacije jetre. *Medix* 17:172-175
2. Paul Martin, Andrea DiMartini, Sandy Feng, Robert Brown Jr., Michael Fallon (2014) Evaluation for liver transplantation in adults: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. DOI:10.1002/hep.26972
3. Xiao-Bo Chen and Ming-Qing Xu (2014) Primary graft dysfunction after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2014;13:125-137
4. Pacheco EG, Silva Jr ODCE, Sankarankutty AK, Ribeiro Jr MAF. (2010) Analysis of the liver effluent as a marker of preservation injury and early graft performance. *Transplant Proc* 2010;42:435–439.
5. Cornelia J. Verhoeven, Waqar R.R. Farid, Jeroen de Jonge, Herold J. Metselaar, Geert Kazemier, Luc J.W. van der Laan (2014) Biomarkers to assess graft quality during conventional and machine preservation in liver transplantation DOI: ; 672–684
6. Ahmad J, Bryce CL, Cacciarelli T, Roberts MS (2007) Differences in access to liver transplantation: disease severity, waiting time, and transplantation center volume. *Ann Intern Med.* 146(10):707.
7. Gebhard Wagener, Brian Raffel, Andrew T. Young, Moury Minhaz and Jean Emond (2013) Predicting Early Allograft Failure and Mortality After Liver Transplantation: The Role of the Postoperative Model for End-Stage Liver Disease Score DOI 10.1002/lt.23634
8. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, et al. (2001) A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 33:464-470
9. Zlata Flegar-Meštrić, Aida Nazor, Sonja Perkov, Branka Šurina, Zoran Šiftar, Ivan Ožvald, Željko Vidas (2011) Značenje akreditacije kliničkih laboratorija u transplantacijskoj medicini. *Acta Med Croatica*, 65 (Supl.1) (2011) 23-29
10. Principles of Clinical Laboratory Accreditation. Datum pristupa 4. Travnja 2017.
11. Datum pristupa 15. Travnja 2017.
12. Datum pristupa 12. Ožujka 2017.
13. Ivan Brižić (2015) Infekcije u bolesnika s transplantacijom jetre, MEF Zg, Diplomski rad

14. Robertson FP, Bessell PR, Diaz-Nieto R, Thomas N, Rolando N, Fuller B, Davidson BR. (2016) High serum Aspartate transaminase levels on day 3 postliver transplantation correlates with graft and patient survival and would be a valid surrogate for outcome in liver transplantation clinical trials. *Transpl Int.* 2016;29:323–330.
15. Bolondi G, Marchegiani F, Montalti R, Nicolini D, Vivarelli M, De Pietri L (2016) Predictive factors of short term outcome after liver transplantation: A review, *World J Gastroenterol.* 2016 Jul 14;22(26):5936-49
16. *Acta Chirurgica Croatica, SLUŽBENI ČASOPIS HRVATSKOGA KIRURŠKOG DRUŠTVA HLZ-A*
17. Zlata Flegar-Meštrić, Aida Nazor Sonja Perković; Branka Šurina, Mirjana Mariana Kardum-Paro, Zoran Šiftar; Mirjana Sikirica, Ivica Sokolić, Ivan Ožvald, Željko Vidas (2010) Accreditation of Medical Laboratories in Croatia – Experiences of the Institute of Clinical Chemistry, University Hospital »Merkur«, Zagreb
18. Pradeep Naik, Venkataraman Sritharan, Premsagar Bandi, Mallikarjuna Madhavarapu (2013) A Single Centre Prospective Study of Liver Function Tests in Post Liver
19. Paul Y.Kwo, Stanley M.Cohen, Joseph K.Lim (2017) ACG Clinical Guideline: Evaluation of abnormal liver chemistries 2017;112:18-35
20. Edris M Alkozai, Lisman, Robert J Porte, Maarten W Nijsten (2014) Early elevated serum gamma glutamyl transpeptidase after liver transplantation is associated with better survival *Transplant Patients* 2013 Jan; 28(1): 38–45)
21. Neal Shahidi, Vladimir Marquez Azalgara, Eric Yoshida (2016) Use of Monitoring Gamma-Glutamyl Transpeptidase Levels After Liver Transplant: A Longitudinal Retrospective Analysis of a Single-Center's Experience. 2016 Jun;14(3):317-22
22. Flegar-Meštrić Z., Šurina B., Perković Z., Matleković D., Hofman B., Mašinović D., Patrlj L., Kocman B. (2002) Biochemical monitoring after liver transplantation
23. Sanja Balen, Štefica Dvornik (2011) Laboratorijska dijagnostika bolesti jetre Laboratory diagnosis of liver disease
24. Hickman PE, Lynch SV, Potter JM, Walker NI, Strong RW, Clouston AD(1994) Gamma glutamyl transferase as a marker of liver transplant rejection. *Transplantation.* 1994 ; 57:1278- 80

7. SAŽETAK

PROGNOSTIČKA VRIJEDNOST KLINIČKI RELEVANTNIH MEDICINSKO-BIOKEMIJSKIH PRETRAGA U PREDIKCIJI RANE RETRANSPLANTACIJE JETRE

Nives Antolić i Anđelka Milakara

Transplantacija jetre ključno je rješenje u liječenju završnog stadija bolesti jetre. Nedostatak dostupnih jetri za transplantaciju te duge liste čekanja dovele su do povećanja transplantacija solidnih organa. Zbog toga, a i zbog činjenice da sustav raspodjele raspoloživih jetri spremnih za transplantaciju ide prvo onim pacijentima koji su dulje ili na samom vrhu transplantacijske liste, dovelo je do toga da transplantat dobivaju sve bolesniji pacijenti što u konačnici umanjuje uspješnost ishoda transplantacije. Zbog kompleksnosti kirurške intervencije i kritičnog stanja transplantiranih pacijenata, od svih komplikacija najčešće su one koje se pojavljuju u prvom postoperativnom tjednu nakon transplantacije jetre. Ozbiljnu prepreku predstavlja nedostatak znanja o ranim posttransplantacijskim laboratorijskim pokazateljima koji bi se mogli koristiti kao važeći prediktivni indikatori rane procjene disfunkcije presatka, retransplantacije ili kirurške intervencije, sekundarnih komplikacija, duljine boravka pacijenta na odjelu intenzivne njege ili smrti pacijenta.¹⁵

U tu svrhu, naš cilj bio je analizirati povezanost trenutno dostupnih ranih posttransplantacijskih laboratorijskih pokazatelja s ranom disfunkcijom jetrenog presatka i ishodom transplantacije u prvom postoperativnom tjednu. Retrospektivnom pretragom laboratorijskog informacijskog sustava (LIS) prikupili smo podatke za AST, ALT, GGT, ALP i ukupni bilirubin koji se rutinski određuju u okviru predtransplantacijske i posttransplantacijske obrade bolesnika. U istraživanje je uključeno 79 kliničkih slučajeva indiciranih za transplantaciju jetre podijeljenih u dvije skupine. Provedena je statistička analiza u svrhu dokazivanja statistički značajne razlike između skupina. Pokazano je da se vrijednosti GGT-a između skupina statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$) u 4., 5., 6. i 7. postoperativnom danu, od kojih

su vrijednosti GGT-a u 6. i 7. postoperativnom danu dijagnostički najbolji prediktori rane disfunkcije jetrenog presatka. Vrijednosti se ALT-a statistički značajno razlikuju u 2. postoperativnom danu, međutim bez dovoljno dobre razlikovne djelotvornosti što pokazuje da ALT nije dobar prediktivni čimbenik. Vrijednosti preostalih laboratorijskih pokazatelja nisu pokazale korelaciju s ranom disfunkcijom jetrenog presatka.

Ključne riječi: transplantacija jetre, prognostička vrijednost, predikcija, presadak

8. SUMMARY

PROGNOSTIC VALUE OF CLINICALLY RELEVANT MEDICAL BIOCHEMISTRY TESTS IN THE PREDICTION OF EARLY LIVER RETRANSPLANTATION

Nives Antolić i Anđelka Milakara

Liver transplantation represents a fundamental therapeutic solution to end-stage liver disease. The shortage of available livers and long waiting lists have led to increased transplantation of marginal organs. The model for end-stage liver disease allocation system distributes transplants to sicker patients, potentially impairing the final outcome. A serious pitfall is the lack of early postoperative tools to predict short-term outcome for grafts and patients after liver transplant. The greatest number of complications occur during the first postoperative week. Little is known about the early postoperative parameters that can be used as valid predictive indices for early graft function, retransplantation or surgical reintervention, secondary complications, long intensive care unit stay or death.

Here, we review the currently available functional tests that assess graft and patient status during the first week after liver transplantation to predict liver allograft function and patient outcome and to quickly guide the early postoperative surgical and intensive care management.

Restrospectively, we collected data for AST, ALT, GGT, ALP and total bilirubin from Laboratory Information System (LIS) which are routinely determined within the pretransplantation and posttransplantation treatment of patients in laboratory.

The study included 79 clinical cases indicating liver transplantation divided into two groups. A statistical analysis was carried out to prove the statistically significant difference between the groups. It has been shown that the GGT values between the groups statistically differ significantly ($p < 0.05$) in the 4th, 5th, 6th and 7th postoperative day. The GGT values in the 6th and 7th postoperative day were diagnostically the best predictors of early graft failure and liver dysfunction. The ALT values differ statistically significantly in the 2nd postoperative day, however without

sufficient differentiation efficacy, indicating that ALT is not a good predictive factor. The values of the remaining laboratory indicators used in our review did not correlate with early liver graft dysfunction.

Keywords: liver transplantation, prognostic value, prediction, graft