

# Sammenheng mellom urinsyre og inflammasjon og vaskulær funksjon hos nyretransplanterte pasienter

Kristin Omholt



Masteroppgave ved Avdeling for farmasøytisk biovitenskap

Farmasøytisk institutt

Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Mai 2013



Sammenheng mellom urinsyre og inflammasjon og vaskulær funksjon  
hos nyretransplanterte pasienter

Kristin Omholt

Masteroppgave ved Avdeling for farmasøytisk biovitenskap

Farmasøytisk institutt

Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

Veiledere:

Anders Hartmann, overlege professor dr. med

Anders Åsberg, professor dr. cand. scient

Trond Jenssen, overlege professor dr. med

Dag Olav Dahle, cand. med

Utført ved

Nyrefysiologisk Laboratorium

Medisinsk avdeling

Rikshospitalet

Oslo



Copyright Forfatter

2013

Sammenheng mellom urinsyre og inflammasjon og vaskulær funksjon hos nyretransplanterte pasienter

Forfatter: Kristin Omholt

<http://www.duo.uio.no>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

# Forord

En stor takk rettes til alle som har bidratt til at mitt år med masteroppgaven ved Nyrefysiologisk laboratorium, OUS Rikshospitalet ble fylt med mye lærdom, men også mye latter. En spesielt stor takk rettes til:

Professor dr. cand scient Anders Åsberg, som selv om han har vært i USA har hatt en imponerende rask e-mail respons. Tusen takk for svar og tilbakemeldinger underveis.

Seksjonsoverlege professor dr. med Anders Hartmann for faglige innspill, motivasjon og inspirasjon gjennom hele året, samt artige lunsjer.

Overlege professor dr. med Trond Jenssen for motivasjon og veiledning.

Lege Dag Olav Dahle for oppfølging, faglig veiledning og inspirasjon. Tusen takk for at du alltid har stilt opp, om det en gjaldt undersøkelser, spørsmål eller veiledning.

Bioingeniør Kirsten Lund for evig laser-Doppler optimisme, og mye latter.

Bioingeniørene May Ellen Lauritzen og Els Brestein for koselig lunsjer og svar på spørsmål.

Studiesykepleierne Hilde Hestvåg og Liv Bråten for mye latter og motivasjon.

Provisorfarmasøyt Thea Anine Strøm Halden for svar på spørsmål og ellers mye moro.

Forsker og Ph.d. Thor Ueland for hjelp med biokjemiske analyser.

Alle pasienter som sa seg frivillig til å stille opp i denne studien.

Til sist vil jeg takke familie og venner. En ekstra spesiell takk vil jeg gi til min kjære samboer Fredrik for at du alltid har vært der for meg, og spredd mye glede i hverdagen.

Oslo, mai 2013

Kristin Omholt



# Sammendrag

## ***Introduksjon:***

Dette var en todelt oppgave som skulle se på urinsyres assosiasjon med vaskulær funksjon og hvordan generell inflammasjon innvirker. Ulike vaskulære dysfunksjoner, som endoteldysfunksjon og karstivhet er viktige faktorer i utvikling av nyresvikt hos nyresyke og økt risiko for kardiovaskulære hendelser i denne pasientpopulasjonen.

Assosiasjonen mellom en test som måler karstivhet og to som måler endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen, og hvordan disse testene er assosiert med demografiske og inflammatoriske faktorer ble også undersøkt.

Endoteldysfunksjon og karstivhet er kjent som viktige faktorer for aterosklerose og arteriosklerose, som kan føre til progresjon hos nyresyke og økte risiko for kardiovaskulære hendelser.

Urinsyre er assosiert med en økt progresjon av nyresvikt hos kronisk nyresyke og som en forutsigende markør for utvikling av nyresykdom hos personer med normal nyrefunksjon.

Ekperimentelle studier har vist at urinsyre kan føre til oksidativt stress, aktivere renin-angiotensin systemet, mitokondriell dysfunksjon, proliferasjon av glatte muskelceller, øke produksjon av CRP og utvikling av endoteldysfunksjon ved å nedsette biotilgjengeligheten av nitrogenmonoksid. Hoveddelen i oppgaven gikk ut på å måle karstivhet og endotelfunksjon og se på assosiasjonen med urinsyre, inflammatoriske markører og demografiske data.

## ***Materialer og metode:***

Totalt ble 85 nyretransplanterte pasienter undersøkt med endoteltester for mikrosirkulasjon 8-10 uker etter transplantasjon. Ved rutinekontroll 10 uker etter transplantasjon ble karstivhet målt ved den ikke-invasive testen SphygmoCor (PWV). Det ble tatt blodprøver for analyse av biokjemiske markører. Pasienter ble inkludert fortløpende som de kom til 8-10 uker etter nyretransplantasjon. Ingen spesielle inklusjonskriterier. Eksklusjonskriterier var smittsomme sykdommer eller manglende resultater fra karstivhet- og endoteltestene. Totalt 79 pasienter ble tatt med i studien. 14 pasienter ble undersøkt med laser-Doppler flowmetri, 49 med Endo-PAT og 79 fikk vellykkede karstivhetsmålinger med SphygmoCor.



**Resultater:**

*Del I - Hoveddel:* Urinsyre var positivt assosiert med endotelavhengig vasodilatasjon. Urinsyre var også positivt med assosiert med de inflammatoriske markørene triglyserider, ICAM-1 og von Willebrand faktor, og negativt assosiert med den antiinflammatoriske markøren HDL-kolesterol. Det ble observert en positiv assosiasjon mellom urinsyre, dialysetid og pulstrykk. eGFR var negativt assosiert med urinsyre.

*Del II:* Det var ikke noen assosiasjon mellom karstivhet og endotelfunksjon. Karstivhet var positivt assosiert med pretransplantasjonsdialyse, alder, diabetes og nedsatt glukosetoleranse. Endotelfunksjon var ikke assosiert med noen biokjemiske markører.

**Konklusjon:**

*Del I Hoveddel – Urinsyre:* Det var motstridende observasjoner angående urinsyres assosiasjon med endotelfunksjon. Urinsyre var ikke assosiert med karstivhet. Urinsyre var positivt assosiert med de inflammatoriske markørene TG, ICAM-1 og vWf, og negativt assosiert med den anti-inflammatoriske markøren HDL-kolesterol.

*Del II – Vaskulær og mikrovaskulær funksjon:* Karstivhet var ikke assosiert med de to testene for endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen. Undersøkelsene for endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen var ikke assosiert med hverandre. Karstivhet var assosiert med dialysetid, alder, IGT og diabetes. Mikrosirkulasjonstestene Endo-PAT og laser-Doppler var ikke assosiert med noen demografiske eller biokjemiske markører.

# Forkortelser

ACE	”angiotensin-converting enzyme”
ACh	acetylkolin
AT II	angiotensin II
ATP	”adenosine triphosphate”
AU	arbitrære enheter
AUC	areal under kurven
BMI	kroppsmasse indeks
CNI	kalsineurinhemmer
CRP	C-reaktivt protein
CsA	Ciklosporin A
DD	død donor
ELISA	”enzyme-linked immunosorbent assay”
eNOS	endotelcelle-nitrogenmonoksid-syntase
GFR	glomerulær filtrasjonsrate
HCTZ	”hydrochlorotiazide”
HDL	”high-density lipoprotein”
HT	hypertensjon
ICAM-1	”intercellular adhesion molecule-1”
IGT	”impaired glucose tolerance” / nedsatt glukosetoleranse
KI	konfidensintervall
IL-2	interleukin-2
LD	levende donor
LDF	Laser-Doppler flowmetri
LDL	”low density lipoprotein”
MCP-1	”macrophage chemottractant peptide-1”
MMF	mykofenolat mofetil
mTOR	”mammalian target of rapamycin”
NaCl	natriumklorid
NADPH	”nicotinamide adenine dinucleotide phosphateoxidase”
NO	nitrogenmonoksid
NOS-1	nitrogenmonoksid-syntase-1
OGTT	oral glukosetoleransetest

OD	optisk tetthet
OUS	Oslo universitetssykehus
Peak	maksimal flux-verdi for blodperfusjon
PG	prostaglandiner
PORH	postokklusiv reaktiv hyperemi
RAS	”renin-angiotensin system”
ROS	reaktive oksygenspesier
SBP	”systolic blood pressure
SD	”standard deviation”
Tac	tacrolimus
TG	triglyserider
VCAM-1	”vascular cell adhesion molecule-1”
VSMC	”vascular smooth muscle cell”
vWf	von Willebrand faktor
WHO	Verdens helseorganisasjon



# Innholdsfortegnelse

Sammendrag.....	VI
Forkortelser.....	VIII
<b>1 Introduksjon.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Nyretransplantasjon .....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Immunsuppressiv behandling .....	2
<b>1.2 Urinsyre .....</b>	<b>4</b>
1.2.1 Urinsyre produksjon og metabolisme .....	4
1.2.2 Urinsyre, inflammasjon og kronisk nyresykdom.....	5
1.2.1 Urinsyre og kardiovaskulær sykdom.....	8
1.2.2 Urinsyre som legemiddeltarget.....	9
<b>1.3 Kardiovaskulær risikoprofil hos nyretransplanterte pasienter.....</b>	<b>10</b>
1.3.1 Dialyse .....	10
1.3.2 Aterosklerose .....	11
1.3.3 Arteriosklerose.....	11
1.3.4 Endoteldysfunksjon.....	12
1.3.5 Karstivhet.....	13
1.3.6 Biokjemiske markører.....	14
<b>1.4 Målinger av vaskulær og mikrovaskulær funksjon .....</b>	<b>17</b>
1.4.1 SphygmoCor (karstivhet).....	17
1.4.2 Laser Doppler Flowmetri (mikrosirkulasjon).....	18
1.4.3 Endo-PAT (mikrosirkulasjon).....	19
<b>1.5 Hensikt med oppgaven .....</b>	<b>20</b>
<b>2 Materialer og metoder .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 Studiedesign.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 Prøvetaking .....</b>	<b>21</b>
2.2.1 10-ukers kontroll.....	21
2.2.2 Blod.....	21
<b>2.3 Blodtrykk .....</b>	<b>22</b>
<b>2.4 Endotelfunksjonsmålinger.....</b>	<b>22</b>
2.4.1 SphygmoCor .....	22
2.4.2 Laser Doppler Flowmetri .....	23
2.4.3 Endo-PAT .....	26
<b>2.5 Oral glukosetoleransetest .....</b>	<b>27</b>
<b>2.6 Analyse av biokjemiske markører .....</b>	<b>28</b>
2.6.1 NO.....	28
2.6.2 ICAM-1.....	29
2.6.3 Adiponektin og von Willebrand faktor: .....	30
2.6.4 Beregninger.....	31
2.6.5 Andre biokjemiske markører .....	31
<b>2.7 Statistikk .....</b>	<b>32</b>
<b>3 Resultater .....</b>	<b>33</b>
<b>3.1 Pasienter .....</b>	<b>33</b>
3.1.1 Immunsuppressiv behandling .....	35
<b>3.2 Oral glukosetoleranse.....</b>	<b>35</b>
<b>3.3 Del I - Hoveddel: Urinsyre.....</b>	<b>36</b>
3.3.1 Vaskulær og mikrovaskulær funksjon.....	36
3.3.2 Demografiske data, glukosemetabolisme og nyrefunksjon.....	37

3.3.3	Biokjemiske markører .....	40
<b>3.1</b>	<b>Del II - Vaskulær og mikrovaskulær funksjon .....</b>	<b>42</b>
3.1.1	SphygmoCor pulse wave velocity (karstivhetsmåling).....	42
3.1.2	Laser Doppler Flowmetri (mikrovaskulær funksjon) .....	44
3.1.3	Endo-PAT (mikrovaskulær funksjon).....	45
<b>4</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>46</b>
4.1	Del I - Urinsyre.....	46
4.2	Del II - Vaskulær og mikrovaskulær funksjon .....	49
<b>5</b>	<b>Konklusjon .....</b>	<b>52</b>
	<b>Litteraturliste.....</b>	<b>53</b>
	<b>Appendiks.....</b>	<b>59</b>

# 1 Introduksjon

Nyretransplanterte pasienter er i en mye større grad utsatt for utvikling av kardiovaskulær sykdom og død, sammenlignet med normalbefolkningen [1]. Pasienter som gjennomgår hemodialyse før transplantasjon har en 10 til 20 ganger høyere risiko for utvikling av kardiovaskulær sykdom sammenlignet med normalbefolkningen. Tradisjonelle risikofaktorer som hypertensjon, hyperlipidemi, fedme, røyking og en generelt høyere gjennomsnittsalder kan ikke gjøre fullstendig rede for den økte risikoen [1].

## 1.1 Nyretransplantasjon

Ved nyresvikt er nyretransplantasjon foretrukket fremfor dialyse, så fremt pasienten blir klarert for en slik operasjon. Transplantasjon kan utføres med organer fra levende eller død donor. Ved bruk av nyre fra levende donor (LD) blir tiden fram til transplantasjon kortere, slik at en kan unngå at pasienten må i dialyse. En annen fordel er at nyrefunksjonen oftest virker optimalt umiddelbart etter transplantasjon. Ved avdød donor (DD) nyre vil både ventetid til transplantasjon og tiden til nyren fungerer optimalt være lenger. LD nyrer gir generelt bedre langtidsresultater sammenlignet med DD nyre transplantasjon. Spesielt gode resultater ser en ved transplantasjon mellom søsken som har arvet lik vevstype fra sine foreldre, som altså har 0 HLA AB-DR (mis-match). Selv med 1 eller 2 haplotype ulikheter, oppnås bedre resultater med levende donor enn med nyre fra DD i forhold til overlevelse av transplantat [2].

I Norge er det ønskelig å utrede for mulighet å transplantere fra levende giver, før pasienten eventuelt blir satt på venteliste for DD nyre. Det blir gjennomført flest transplantasjoner med nyre fra død giver. For at en nyre skal kunne bli benyttet som transplantat må donor være antatt nyrefrisk med normal nyrefunksjon og normale urinn. Donor skal ikke ha hatt malign sykdom eller ha aktiv systemisk infeksjon. Det er ingen offisiell aldersgrense på givere, så givere opp mot 80 år har blitt brukt [2].

Ved utgangen av 2011 stod 193 pasienter på venteliste for død donor nyre, en nedgang på 18 % (31 pasienter) siden 2010. Blant disse var medianen på ventelisten 7,0 måneder [3].

I 2012 ble totalt 299 pasienter nyretransplantert ved OUS Rikshospitalet. Av disse utgjorde nyre fra levende giver litt under en tredjedel. Alle transplantasjoner i Norge utføres på Rikshospitalet, som er en av de største nyretransplantasjonssentrene i verden.

### **1.1.1 Immunsuppressiv behandling**

Ved nyretransplantasjon i Norge i dag består standardbehandlingen av en kalsineurinhemmer (CNI), en hemmer av celleproliferasjon og kortikosteroider.

Tacrolimus (Tac) er det legemiddelet som flest pasienter benytter som immunsuppresjon etter transplantasjon for å hindre avstøtning av nyre. Tac er en CNI med smalt terapeutisk vindu, noe som gjør monitorering av dens konsentrasjoner svært viktig. Ved for lave konsentrasjoner risikeres avstøtning og ved for høy dosering kan Tac indusere akutt og kronisk nefrotoksisitet. Effekten til Tac på nyren kan skyldes en ubalanse i sekresjon og metabolisme av vasodilatorene nitrogenmonoksid (NO) og prostaglandiner (PG), samt vasokonstriktorene tromboksan og endotelin-1. Dette kan skje i kombinasjon med økt stimulering av det sympatiske nervesystemet [4]. Cyklosporin (CsA) er også en CNI, men brukes i mindre grad. CNI virker ved å blokkere videreføring av signal fra T-cellereseptor ved å hemme kalsineurin, dette vil også bidra til å hemme oppregulering av IL-2 og IL-2 reseptorer [5].

Hyperurikemi er vanlig hos nyretransplanterte som behandles med CNI. Dette er observert hos 50-80 % av pasienter behandlet med CsA, og 30 % til 50 % i pasienter behandlet med Tac [6]. De forhøyede nivåene av urinsyre er assosiert med CNI skyldes økt tubulær reabsorpsjon og nedsatt glomerulær filtrasjonsrate (GFR) på grunn av afferent arteriole vasokonstriksjon [6].

Prednisolon tabletter etter nyretransplantasjon er vanlig forskrevet som en del av immunsuppresjonen. Prednisolon virker ved å hemme cytokiner og cytokinresponser, samt hindre migrering av lymfocytter til transplantat [5]. Prednisolon kan bidra til hypertensjon, osteoporose og maskering av potensielt alvorlige infeksjoner. Prednisolon er også sterkt assosiert med posttransplantasjons glukose intoleranse [7].



Immunsuppresiv behandling er også med på å bidra til hypertensjon (HT), økt "low density lipoprotein" (LDL) og triglyserider (TG).

Det blir i tillegg av og til benyttet "mammalian target of rapamycin" (mTOR)-hemmere sammen med grunnbehandlingen [5].

## 1.2 Urinsyre

Urinsyre ble først oppdaget på 1700 tallet av en svensk farmasøyt Carl Wilhelm Scheele da han pulveriserte nyrestein. På midten av 1800-tallet ble det oppdaget en sammenheng mellom urinsyre og podagra. Urinsyregikt er en tilstand som oppstår når konsentrasjonene av urinsyre i blod er såpass høy at syren ikke løser seg, men i stedet danner krystaller [8]. Krystallene kan akkumuleres i ledd eller under huden. Podagra er en type urinsyregikt og karakteriseres ved at krystallene samles i leddet i stortåa. På slutten av 1800-tallet kom hypotesen at urinsyre kunne være årsak for hypertensjon og nyresykdom fra Frederick Mahomed, Alexander Haig og Nathan Smith Davis [9]. Denne sammenhengen ble senere vist i Richard Johnsons dyreeksperimentelle studier i 2001-2002 [10], og i Daniel Feig sine humane studier fra 2008 til 2012 [11]. Urinsyregikt og nyresvikt ble for første gang satt i sammenheng på midten av 1900 tallet. Da ble det antatt at nyreskaden skyldtes uratnefropati [12]. Nyrene kan skades ved utfelling av natriumurat enten ved nyrestein [13], eller akutt høye konsentrasjoner av urinsyre ved lyse syndrom [14]. I hvilken grad urinsyre er med på å utvikle nyresykdom har vært mye omdiskutert. Det begynte på 1960-tallet med uratnefropati som teori, hvor en antok uratutfelling og krystalldannelse skadet nyrene. Dette frafalt ved studier som observerte spredde tilfeller av utfelling av urinsyre i nyrene hos pasienter med urinsyregikt, og at forandringen i nyrene var uspesifikke og kunne ligne hypertensiv skade [15]. Det ble deretter utført en studie med allopurinol, som ikke viste noen nyrebeskyttende effekt [16]. Hypertensjon kan føre til nedsatt nyrefunksjon som nedsetter utskillelse av urinsyre, dermed ble urinsyre sett på som en markør i stedet for en risiko i seg selv. Det var først Richard Johnsons dyremodeller som klarte å vise at urinsyre kan gi hypertensjon [17], nyreskade [18] og være involvert i metabolsk syndrom [19].

Hyperurikemi er i dag ikke ansett som eneste årsak for utvikling av podagra, men det er den eneste tilstanden som medikamentelt blir behandlet for å senke urinsyre i blod i Norge i dag [8].

### 1.2.1 Urinsyre produksjon og metabolisme

Urinsyre foreligger i størst grad som urat, som er urinsyres anion [20]. Urinsyre dannes ved metabolisme av nukleotider og "adenosine triphosphate" (ATP) og er endeproduktet i purinmetabolismen i mennesker. Mennesker og aper har generelt høyere nivåer av urinsyre. Dette skyldes en mutasjon i urokinase genet som mennesker og aper utviklet for nesten 15

millioner år siden. Urokinase er et leverenzym som spalter urinsyre til endeproduktet allantoin. [21]. Ved normale tilstander vil to tredjedeler av produsert urinsyre fjernes via urin og en tredjedel via galle og ut i tarm. I nyren blir urat filtrert i glomerulus og videre reabsorbert i proksimale tubuli via transportøren ”urate transporter”1 (URAT1). Flere år med studier i dyr og mennesker har ført til en hypotese for nyrenes håndtering av urinsyre, en antatt 4-trinnsmodell. Urat i plasma er lite bundet til proteiner, som gjør at det meste fritt kan filtreres i glomeruli [22]. I proksimale tubuli blir 90—95 % reabsorbert etterfulgt av sekresjon av rundt femti prosent filtrert urat i tubuli lumen via transportører . Dette etterfølges igjen av postsekretorisk reabsorpsjon [23]. Det er flere transportører involvert i denne prosessen. For reabsorpsjon er transportørene URAT-1 og ”glucosetransporter-9” (GLUT-9) viktige. Ved sekresjon er ATP-binding cassette transporter 2” (ABCG2), NPT1 og NPT4 i ”sodium-dependent phosphate transport protein 1” (SLC17) involvert [23].

Redusert GFR, diuretika, økt vaskulær konstriksjon og insulinresistens er faktorer hos kronisk nyresyke pasienter som øker nivåene av urinsyre [8]. GFR under 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> , som tilsvarer svekket nyrefunksjon, er korrelert med høyere nivåer av urinsyre [24]. Dette innebærer at urinsyre i større grad må skilles ut fra tarm, eller at eventuelt produksjonen må gå ned. Konsentrasjonen av urinsyre økes ved inntak av alkohol og purinrik mat. Hyperurikemi er vanligvis definert som konsentrasjoner over 350 µmol/L hos kvinner og 459 µmol/L hos menn målt i serum [25].

Urinsyre er en tydelig markør for flere sykdomstilstander og hendelser, som gjør det vanskelig å studere urinsyre i epidemiologiske studier, hvor det ofte måles og korrigeres for de selvstendige effektene av urinsyre.

### **1.2.2 Urinsyre, inflammasjon og kronisk nyresykdom**

Ved nedsatt nyrefunksjon og redusert blodtilførsel til nyrene vil nivåene av urinsyre øke. Dette skyldes at urinsyres primære ekskresjonsvei begrenses. Urinsyre transporteres ut av kroppen i urin. Utover renal utskillelse har ikke mennesket noen annen ekskresjonsvei for å skille ut overflødig urinsyre [26]. Det er dermed vanlig å observere økte urinsyrenivåer hos nyresyke pasienter. Dyremodeller har vist at økt urinsyre fører til glomerulær og systemisk hypertensjon. Nyresyke dyr viser også en hurtigere progresjon i nyresykdom uten tilstedeværelse av krystaller [27].

Urinsyre er lenge sett på som en markør for økt risiko for kardiovaskulær sykdom og progresjon av nyresykdom, men ikke at den skader selv med unntak av krystalldannelse. Urinsyre behandles sjeldent, med mindre det kan lede til destruktiv urinsyregikt. Dyrestudier de siste årene har demonstrert at urinsyre i seg selv kan føre til økt blodtrykk og nyreskade som ikke skyldes krystall dannelse [25].

### ***Dyrestudier:***

Dyrestudier utført på rotter har vist at hyperurikemi induerte en primær renal sykdom i arteriolen i rotter ved en mekanisme uavhengig av blodtrykk. Det ble også observert at mild hyperurikemi induerte økning i blodtrykk etter flere uker. Systolisk blodtrykk (SBP) korrelerte direkte med urinsyre nivåer i serum, hvor 1 mg/dl endring i urinsyre ble assosiert med en 30 til 40 mmHg økning i blodtrykk. Blodtrykket økte ikke i gruppen rotter som ble administrert med legemiddelet allopurinol eller benzydaron. Disse to legemidlene øker utskillelsen av urinsyre [10].

Mekanismen som fører til økt blodtrykk er i dyrestudier vist å involvere RAS. Rotter med noe høyere nivåer av urinsyre hadde økt juxtaglomerular renin ekspresjon og nedsatt nitrogenmonoksid syntase-1 (NOS-1) i macula densa [28]. Dette viser en krystall uavhengig mekanisme, som involverer aktivering av RAS og hemming av NOS-1[28]. I Macula densa spiller viktig rolle i produksjonen av NO [28]. For relaxering av glatt muskel i arteriolene og tubulær glomerulær feedback er NO viktig [28]. Nedsatt tilgjengelighet av NO er assosiert med endotel dysfunksjon [29]. Eksperimentelle studier har også vist at urinsyre virker proinflammatorisk ved å induere "vascular smooth muscle cell" (VSMC) proliferasjon og oppregulering av CRP [29].

Mazzali et al. viste i sine dyrestudier at både hyperruremi og hypertensjon kan motvirkes ved administrasjon av allopurinol eller benzydaron, to legemidler som øker utskillelsen av urinsyre. Samme studie fant også en økt media-til-lumen ratio i preglomerulære årer i nyrene hos rottene med økt urinsyre. Dette ble ikke observert i kontrollgruppene som fikk lav-natriumklorid-diett. Dette var et nytt funn for urinsyre. Afferent arteriole tykkelse korrelerte positivt med både SBP og serum urinsyre nivåer. Studien viste at hyperruremi induerte lesjoner i arteriolene som en primær hendelse og ikke sekundært til høyt blodtrykk. Rotter på en lav-salt og oxonic syre diett ble behandlet med "hydrochloortiazide" (HCTZ) eller med

angiotensin-converting-enzyme (ACE) hemmeren enalapril for å holde blodtrykket normalt. Oxonic syre er en urokinase-hemmer. Både HCTZ og ACE-hemmeren motvirket utvikling av høyt blodtrykk i rottene. Selv med et blodtrykk i normalt område utviklet disse rottene lesjoner i arteriolene og fortykkelse av arterioleveggen ved HCTZ terapi, slik som rottene som kun gikk på oxonic syre. Enalapril derimot reduserte media-til-lumen ratio signifikant i rotter med høy urinsyre, og fikk nesten lik ratio som rottene med normal urinsyre i kontrollgruppen. Observasjonen at rotter med høy urinsyre utviklet arteriolopati uavhengig av blodtrykk, kan bety at urinsyre har en direkte effekt på glatte muskel celler. Glatte muskel celler inkubert med urinsyre viste en markant økning i celle proliferasjon, denne proliferasjonen ble delvis blokkert av losartan, en angiotensin II(AT II)-reseptorantagonist. Det ble ikke observert proliferasjon ved inkubasjon av glatte muskelceller med oxonic syre. Dette funnet kan tyde på at sykdom i arteriolene er delvis avhengig av angiotensin II [17].

### ***Epidemiologiske studier:***

I de fleste dyr er nivåene av urinsyre relativt lave på grunn av enzymet urokinase som hepatisk degraderer urinsyre til 5-hydroksyisourat, og til slutt endeproduktet allantoin. Mennesker og aper har en mutasjon som gjør at dette genet ikke uttrykkes. Som en konsekvens av dette vil urinsyrenivåer i aper og mennesker endres lettere ved blant annet kosthold. Dette gjør det til en utfordring å finne passende dyremodeller som kan mimikere menneskelige forhold.

Ved nedsatt nyrefunksjon øker urinsyre, og halvparten av pasientene som starter i dialyse er hyperurikemiske. Dette gjør det problematisk å studere urinsyres progresjon hos kronisk nyresyke i epidemiologisk studier. Derfor er det ikke overaskende at flere studier ikke finner en assosiasjon mellom urinsyre og progresjon av nyresykdom hos pasienter med allerede etablert nyresykdom. Eksperimentelle dyrestudier viser at mekanismen bak nyreskade skyldes hovedsakelig et økt blodtrykk systemisk og glomerulært. Økte nivåer av urinsyre induserer oksidativt stress og endotel-dysfunksjon, som resulterer i utvikling av både systemisk og glomerulær hypertensjon, som er assosiert med økt renal vaskulær motstand og redusert renal blodflow. Problemet i epidemiologiske studier av nyresyke er at denne mekanismen for økt blodtrykk blir mindre relevant, da denne pasientgruppen ofte utvikler systemisk hypertensjon som konsekvens av vann- og natriumretensjon. Studier gjennomført på mennesker med normal nyrefunksjon viser derimot at økte nivåer av urinsyre uavhengig kan forutsi utvikling av nyresykdom, inkludert nyresvikt. Unntaket er for diabetikere med

dårlig blodsukkerkontroll. Disse har generelt lavere urinsyre grunnet glukosuri, som øker utskillelsen av urat. Metabolsk syndrom og overvekt er to av de vanligste risikofaktorene assosiert med hyperurikemi, og antas å være en konsekvens av insulinresistens som fører til redusert urat ekskresjon i urin [27].

Det er ikke konsistente funn av urinsyrekonsentrasjon hos pasienter med etablert nyresykdom og progresjon av nyresvikt. Dette kan skyldes flere faktorer som diskutert tidligere. Derimot har epidemiologiske studier observert at subjekter med normal nyrefunksjon og økte urinsyrenivåer kan forutsi utvikling av nyresykdom og nyresvikt [27, 30]. Wang et al. undersøkte 94 422 menn i en periode på tre og et halvt år, og så en tydelig assosiasjon mellom økte nivåer av urinsyre og utvikling av kronisk nyresykdom [31].

### **1.2.1 Urinsyre og kardiovaskulær sykdom**

Økte nivåer av urinsyre og kardiovaskulær sykdom har blitt assosiert, men denne observasjonen er noe omdiskutert. Selv om det er vist en assosiasjon er det fortsatt usikkert om urinsyre er en risikofaktor eller kun en biomarkør for uheldige risikofaktorer som har en allerede sterk assosiasjon med kardiovaskulær sykdom som diabetes, hypertensjon, nyresykdom, insulin resistens og fedme [32]. Interessen for urinsyre som en selvstendig risikofaktor har økt i det siste grunnet to viktige observasjoner i eksperimentelle studier. Den første går ut på at nivåene av urinsyre i serum har vist seg å være en sterk forutsigende faktor for hypertensjon i nesten alle dyrestudier. Den andre observasjonen er at hemming av uricase i rotter resulterer i økt serum urinsyre og utvikling av systemisk hypertensjon, som kan motvirkes ved enten xantin oksidase hemmere eller andre legemidler som nedsetter urinsyre. Hypertensjonen i den siste observasjonen ble senere vist å vær delt i to faser. En startfase drevet av urinsyre og medierte endotel-dysfunksjon, oksidativt stress og aktivering av RAS. Den påfølgende fasen drives av patologisk mikrovaskulære og inflammatoriske endringer avhengig av urinsyrenivåene. Det er veletablert at to av de mer alvorlige konsekvensene ved hypertensjon er hjerteproblemer og slag [33].

Det er utført flere epidemiologiske studier som ikke har ført til en konkret konklusjon på urinsyre sin assosiasjon med kardiovaskulær sykdom, men som indikerer at urinsyre øker risikoen for hjerte-karsykdom [17]. Det er derimot observert at urinsyre er sterkt assosiert med hypertensjon. Problemet med epidemiologiske studier her er at justeringer kan føre til at

mister assosiasjoner, for eksempel ved å justere for hypertensjon som er en av de antatte mekanismene til urinsyres påvirkning ved hjerte-karsykdom [9].

### **1.2.2 Urinsyre som legemiddeltarget**

Urinsyre er sterkt assosiert med progresjon av nyresykdom og utvikling av hjerte-karsykdom. Det er likevel behov for kliniske intervensjonsstudier for å etablere effekten av urinsyre-nedsenkende behandling mot hjerte-karsykdom og nyresykdom.

#### ***Xantin oksidase hemmer:***

Xantin oksidase hemmere som allopurinol benyttes hovedsakelig ved hyperruremi som kan føre til urinsyregikt. Allopurinol hemmer enzymet xantin oksidase som omdanner hypoxantin til xantin og xantin videre til urinsyre [8]. Dette er det eneste legemiddelet med markedsføringstillatelse på det norske markedet som senker nivået av urinsyre i både blod og urin. Allopurinol har i studier vist å kunne bedre endotelfunksjon hos pasienter med hjertesvikt og type-2 diabetes [34].

#### ***Angiotensin II-reseptorantagonist:***

Urinsyre kan se ut til å delvis være avhengig av angiotensin II ved økning av blodtrykk. Dyremodeller har vist at losartan som er en angiotensin II-reseptorantagonist senker nivåene av urinsyre i blod. Samme studie viste at losartan kan gi ekstra fordeler ved å bremse progresjon av nyresykdom og redusere antall kardiovaskulære hendelser [17].

## 1.3 Kardiovaskulær risikoprofil hos nyretransplanterte pasienter

### 1.3.1 Dialyse

Hemodialyse og peritonealdialyse er de to typene dialyse som benyttes. Ved hemodialyse sirkulerer blodet gjennom et filter som rensar blodet for avfallsstoffer som normalt skilles ut av nyrene. Konsentrasjon av mineraler og syrenivå normaliseres i blodet. Blodet resirkuleres tilbake til pasienten etter at det har gått gjennom filteret. Ved dialyse må det settes inn dialysekateter eller fistel, slik at dialysemaskinen kan sirkulere blodet ut og inn av blodårene. Peritonealdialyse benytter seg av membranen i bukhulen som omgir organene til å filtrere vekk overskudd av væske og avfallsstoffer. Dette utføres ved at 2-3 liter dialysevæske administreres til bukhulen via et kateter. Dialysevæsken er tilsatt stoffer som binder til seg avfallsstoffer og overflødig væske, og etter noen timer kan dialysevæsken tømmes ut. Dette gjentas fire til fem ganger daglig, og kan selv utføres av pasienten hjemme [35]. Dette gir større frihet en ved hemodialyse som må skje ved et senter.

Dialyse er en kraftig påkjenning for pasientene, og nyresviktpasienter i hemodialyse eller peritonealdialyse har 10 til 20 ganger høyere risiko for kardiovaskulær død sammenlignet med normalbefolkningen, når det justeres for alder, kjønn og rase. Diabetikere i dialyse har nesten dobbelt så høy mortalitet sammenlignet med nyresviktpasienter i dialyse uten diabetes [1]. Pasienter i dialyse med høye nivåer av urinsyre i blod har blitt funnet å ha dårligere endotelfunksjon [36].

Pasienter i kronisk dialysebehandling har en økt risiko for mortalitet, hvor halvparten av dødsfallene skyldes kardiovaskulær sykdom. Selv etter justering for kjønn, rase, og eventuelt diabetes, er mortaliteten 10-30 ganger høyere hos dialysepasienter enn hos normalbefolkningen. Derfor ha man antatt at det er flere risikofaktorer som er med på bidra ved utvikling av kardiovaskulær sykdom en de tradisjonelle risikofaktorene. Av nye risikofaktorer det er fattet interesse for er hyperurikemi, underernæring, inflammasjon, oksidativt stress, endotel dysfunksjon, vaskulær kalsifisering og karstivhet for å nevne noen [37].



### **1.3.2 Aterosklerose**

Aterosklerose kjennetegnes generelt som ansamlinger av fettstoffer i intima i arteriene. Det skjer en opphopning av kolesterol, lipider, inflammatoriske markører og bindevev. LDL-kolesterol tas opp i makrofager, og det dannes kolesterolestere. Dette fører til en proinflammatorisk tilstand som trigger produksjon av CRP i lever. Plasma CRP er en akutt fase reaktant som har vist seg som å være forbundet med utvikling av kardiovaskulær sykdom. Videre tiltrekkes proinflammatoriske cytokiner som igjen stimulerer ekspresjon av ICAM-1 og VCAM-1 i endotelcellen, som er viktig for å binde monocytter og T-lymfocytter til åreveggen [38]. Makrofagene skiller ut faktorer som stimulerer til celledeling i glatte muskelceller. Først dannes plakk som er reversible, men normalt utvikler disse seg videre til puteformete flekker på intima som provoserer en betennelsesreaksjon i åreveggen. Med tid vil dette området ekspandere og redusere åpning i blodåren. Når et plakk brister vil blodplater og fibrin komme til stedet og det dannes en trombe. Ved trombe og innsnevring samme sted vil en kunne få okklusjon av arterien, og dette kan føre til akutt hjerteinfarkt på grunn av okklusjon [39].

Kliniske endepunkter for aterosklerose er hjerteinfarkt og hjerneslag som er hovedårsak for død og uførhet i Europa [40].

Studier har vist at inflammasjon forårsaket av endoteldysfunksjon kan lede til dannelse av aterosklerose. Ved nedsatt eGFR er det vist at endoteldysfunksjon forverres, noe som kan bety at akkumulering av uremiske faktorer kan bidra til økt kardiovaskulær sykdom hos nyresyke. Endotelfunksjonen hos pasienter som har vært i hemodialyse er tydelig dårligere enn hos predialytiske pasienter, og det er også i gruppen med dialysepasienter det blir rapportert fleste kardiovaskulære hendelser [41].

### **1.3.3 Arteriosklerose**

Arteriosklerose påvirker hovedsakelig media, hvor det skjer en fortykkelse av åreveggen. Dette skyldes avleiringer av kolesterol, bindevev og kalknedslag. Arteriosklerose fører til redusert åpning i blodårene, og som for aterosklerose er dette en tilstand som gjerne oppstår ved langvarig hypertensjon. Ved arteriosklerose har blodåren redusert elastisitet på grunn av økt fibrose, tap elastiske fibre og stor grad av kalknedslag på åreveggene [37].

### 1.3.4 Endoteldysfunksjon

Endotelceller som dekker åreveggen defineres som vaskulært endotel. Endotelet virker som en barriere mellom flytende blod og årevegg, samtidig som det er med på å regulere vaskulær homeostase ved syntetisering og frigjøring av vasoaktive substanser. Disse produktene styrer vasodilatasjon (NO, bradykinin, prostacyclin) og vasokonstriksjon (endotelin-1, angiotensin II) av blodåren [42].

Endoteldysfunksjon karakteriseres i litteraturen som en patologisk tilstand hvor det hovedsakelig er en ubalanse mellom substansene med vasodilaterende, antimitogene og antitrombotiske egenskaper (endotelderiverte relaxerende faktorer) og substanser med vasokonstringerende, protrombotiske og proliferative egenskaper (endotelderiverte kontraherende faktorer) [43]. NO er med på å motvirke aterosklerose ved å hemme plateadhesjon og aggregering, leukocyt adhesjon og migrering, og glatt muskelcelleproliferasjon [43]. Frie radikaler som dannes ved oksidativt stress, som reaktive oksygen spesier (ROS), vil både forstyrre endotelfunksjon og nedsette ekspresjon av NO ved dannelse av peroksynitritt. Peroksynitritt er en viktig mediator for oksidasjon av LDL, samtidig som den degraderer endotelcelle-nitrogenmonoksid-syntase (eNOS) sin kofaktor. Dette aktiverer en reduktase funksjon hos eNOS som fører til økt produksjon av ROS. eNOS går fra sin antiinflammatoriske oksygenase funksjon som danner NO til en proinflammatorisk reduktase form som danner ROS. ROS fører til økt ekspresjon av adhesjonsmolekyler (VCAM-1 og ICAM-1), samt kjemotakse molekyler ("macrophage chemottractant peptide-1") (MCP-1) [44].

Studier har vist at økte nivåer av urinsyre intracellulært er assosiert med nedsatt biotilgjengelighet av NO via ulike mekanismer som blokkering av opptak av L-arginin og stimulering av nedbrytning av L-arginin via arginase [45].

Diabetes kan lede til endoteldysfunksjon ved at insulin signal endres slik at eNOS aktivitet blir nedregulert [44]. Dette gjelder for type 2 diabetikere og personer med insulin resistens. Hyperglykemi kan i seg selv redusere biotilgjengeligheten av NO [44].

Endoteldysfunksjon er assosiert med de fleste risikofaktorene for kardiovaskulær sykdom og blir ansett som en tidlig hendelse i patofysiologien før det er etablert aterosklerose. Normalt skal endotelet inneha funksjoner som rettes i antiinflammatorisk retning.

Graden av endoteldysfunksjon kan måles på ulike måter, hvor en av dem går ut på å bestemme mengden av ulike biokjemiske markører som gir en indikasjon på graden av oksidativt stress, inflammasjon, tilstedeværelse av adhesjonsmolekyler, lipid peroksidering og andre ugunstige tilstander for endotelet. Endotel dysfunksjon kan testes ved å se på endotelets generelle evne til å dilatere ved avklemming av blodårene i overarm eller underarm. Endotelspesifikk vasodilatasjon kan måles ved å overføre substanser til endotelet som fører til at blodårene dilaterer [46].

Siden endoteldysfunksjon er anerkjent som en tidlig markør for hjerte-karsykdom kan måling av denne vise seg å ha prognostisk verdi. Så langt finnes det ikke en endoteltest som beregnes som ”gullstandard”.

### **1.3.5 Karstivhet**

Blodårene blir stivere med alder, men noen sykdomstilstander gjør at denne prosessen kan gå raskere. Arteriosklerose er sterkt forbundet med utvikling av karstivhet. Pulsbølger beveger seg raskt i årene, 5-15 m/s, som er mye raskere en blodstrømmen. Oppførselen til pulsølger er avhengig av ventrikulær kontraksjon og hvordan det vaskulære systemet responderer. Økt stivhet av større arterier gir økt systolisk blodtrykk (SBP) og lavere diastolisk blodtrykk (DBP). Dette gir økt pulstrykk (PP ”pulse pressure”) som medfører redusert koronar blodstrøm. Disse endringene i blodtrykk er veletablerte risikofaktorer for kardiovaskulær sykdom og død [37]. En økt grad av karstivhet kan øke risikoen for slag gjennom flere mekanismer som økt pulstrykk, økt tykkelse i av årevegg i arteria carotis og utvikling av stenose, plakk og muligheten for brist av plakk. Karstivhet er med på å nedsette nyrefunksjon hos nyresyke, selv om mekanismen bak dette ikke er fullstendig klarlagt [37]. Faktorer som kalsifisering av større blodårer, høyere blodtrykk, stress på vaskulær årevegg ved økt plasma glukose og kolesterol nivåer, røyking, redusert treningskapasitet og overvekt er antatt involvert [47].

### 1.3.6 Biokjemiske markører

#### *von Willebrand faktor:*

Dannelse av tromber er viktig i utviklingen av kardiovaskulær sykdom. Starten på en plateplugg starter med en skade i endotel som rekrutterer sirkulerende blodplater som binder seg til glykoprotein i endotel ved oppstått skade. Aktivert glykoprotein reseptor binder fibrinogen og von Willebrand faktor (vWf). Dette fører til en kryssbinding av blodplatene som fører til plateplugg og er viktig for utvikling av kardiovaskulær sykdom og død [48]. Studier har vist at vWf er en sensitiv markør i plasma for utvikling av aterosklerose og stenose i arteriene [49].

#### *CRP:*

Høye nivåer av C-reaktivt protein i plasma er assosiert med økt risiko for utvikling av kardiovaskulær sykdom. Konsentrasjonene av CRP øker betraktelig ved inflammasjon og vevsskade [50]. Klinisk bruk av CRP i dag er kun for å gi en indikasjon på om pasienten har en infeksjon, da CRP er knyttet direkte til inflammasjon [51]. I denne studien er det sammenheng mellom CRP, inflammasjon og urinsyre som er av interesse. Da CRP er knyttet til kardiovaskulær risiko. En studie på humane vaskulære muskelceller har vist at urinsyre ved fysiologiske konsentrasjoner endrer proliferasjon og migrering av NO frigjøring fra vaskulære muskelceller mediert ved økt ekspresjon av CRP [52].

#### *ICAM-1:*

Adhesjonsmolekyler som intracellulært adhesjons molekyl-1 (ICAM-1) virker som proaterosklerotiske faktorer. ICAM-1 er del av immunoglobulin familien og er viktig for migrering av leukocytter ut av blodårer og til vev, da den bidrar til adhesjon av leukocytter. Ekspresjon av ICAM-1 øker ved stimulering fra proinflammatoriske cytokiner. sICAM-1 er en løselig og sirkulerende form av adhesjonsmolekylet, og det er målt høyere nivåer av sICAM-1 i pasienter med aterosklerose, hjerteproblemer og koronar arterie sykdom [27]. sICAM-1 har også en signalerende egenskap, og kan påkalle en rekke inflammatoriske responser [53]. Det er ikke bare endotelceller som uttrykker ICAM-1, det kan se ut til at glatte muskelceller er også med på å uttrykke adhesjonsmolekyler ved aterosklerose [54].

### ***Adiponektin:***

Adiponektin er et plasmaprotein som tilhører gruppen adipokiner som er viktig for insulinfølsomhet og utviklingen av type 2 diabetes. Adipokiner skilles ut av fettvev og er med på å regulere sulthetsfølelse, energimetabolisme, cellevekst og betennelsesreaksjoner [55]. Lave nivåer med adiponektin er assosiert med insulinresistens. Fedme er overraskende negativt korrelert med adiponektin, hos overvektige er målt adiponektin i plasma signifikant lavere enn hos normalvektige [56]. Adiponektin er medvirkende faktor ved å hemme ekspresjon av adhesjonsmolekyler fra endotelceller, noe som er gunstig for endotelet [57]. Adiponektin er med på å hemme omdannelse av makrofager til skumceller, som er en viktig prosess ved dannelse av aterosklerotisk plakk. I tillegg er adiponektin med på å stimulere ekspresjon av NO i endotelceller, som er viktig for glatt muskel vasodilatasjon [58].

### ***Triglyserider:***

Høye konsentrasjoner av triglyserider (TG) i blodet er vist å være svært ugunstig, og øker risikoen for diabetes type 2 og metabolsk syndrom. Konsentrasjoner mellom 10-15 mmol/L er svært ugunstig, og øker risikoen for utvikling av hjerte-karsykdom betraktelig. Det er rapportert assosiasjoner for fastende verdier av TG i plasma og økt risiko for kardiovaskulær sykdom helt ned til 1,5 mmol/L [59]. Høye nivåer av TG er ofte akkompagnert av flere lipidforstyrrelser. Fedme og insulinresistens er blant årsakene en ser hos pasienter med hypertriglyseridemi [60]. Flere studier undersøkt effekt på hjerte-karsykdom hendelser ved å nedsette TG medikamentelt. Felles for studiene er at de har vist en risikoreduksjon for hjerte-karsykdom ved lavere konsentrasjoner av TG [61-63].

### ***HDL- kolesterol:***

High density lipoprotein (HDL) er blant annet kjent for flere av sine gunstige effekter på metabolismen, den viktigste består i å transportere syntetisert kolesterol eller avleiringer i perifert vev tilbake til lever [64]. HDL kan også virke beskyttende på endotel ved å hemme oksidasjon av LDL-kolesterol, da det er den oksiderte formen av LDL som tas opp i makrofager og videre omdannes til skumceller og plakk. HDL er med på å hemme ekskresjon av adhesjonsmolekyler fra endotelceller, samt hemmer plateaggregering og aktivering som er viktig for proinflammatorisk tilstand. Samtidig stimulerer HDL-kolesterol utskillelse av vasodilaterende substanser [65, 66].

### ***Nitrogenmonoksid:***

Nitrogenmonoksid (NO) er et endotelderivert molekyl som fører til vaskulær relaxering.

Nitrogenmonoksid-syntase (NOS) er en familie med enzymer som katalyserer omdannelse av L-arginin til NO. Endotel NOS (eNOS) befinner seg i vaskulært endotel og produserer NO i blodårer, og er dermed med på å regulere vaskulær funksjon. NO aktiverer løselig guanylyl cyclase (sGC) som fører til dannelse av syklisk guanosin monofosfat, som virker som en second messenger vasodilator på glatte muskelceller ved å øke konsentrasjonen av kalsium i cellene [67]. NO virker ikke kun som en vasodilator, men er også viktig for å motvirke utviklingen av aterosklerose ved å hemme aggregering og adhesjon av plater og leukocytter. Generelt vil nedsatt biotilgjengelighet av NO indikere dysfunksjonell fenotype for flere egenskaper til endotel [68].

## 1.4 Målinger av vaskulær og mikrovaskulær funksjon

Det finnes flere ulike tester som undersøker endotelfunksjon i blodårer. Testene kan være invasive eller ikke-invasive. Noen tester er mer avhengig av operatør en andre, noe som kan stille større krav til operatøren i forhold til opplæring og øvelse av teknikk. Andre tester er derimot svært lite operatørvhengige. Det finnes ingen foretrukket test for endoteldysfunksjon. For målinger av karstivhet er SphygmoCor mye benyttet da den er enkel, ikke-invasiv, robust og reproduserbar [37]. Det er utført en undersøkelse som kom fram til at intra- og interobservasjons variabilitet for denne undersøkelsen er mindre en 5 % [69].

### 1.4.1 SphygmoCor (karstivhet)

SphygmoCor er en ikke-invasiv metode for å måle stivhet i større arterier. SphygmoCor monitorerer pulsølger ved hjelp av et tonometer. SphygmoCor brukes til å utføre analysen pulse wave velocity (PWV). Arteriell trykkølgeform varierer på grunn av de ulike blodårene sin oppbygging og fenomenet bølgerrefleksjon. PWV har i flere studier vist seg å være en uavhengig markør for kardiovaskulær sykdom og død hos nyresyke, eldre, hypertensive pasienter og pasienter med nedsatt glukosetoleranse [70, 71].

#### *Pulse wave velocity:*

Pulse wave velocity (PWV) er hastigheten som trykkølgen fra pulsen beveger seg gjennom arteriene, og gir et mål på arteriell karstivhet. PWV beregnes ut i fra formelen:  $PWV = \text{distanse (m)} / \text{transit tid (sek)}$ . PWV påvirkes i stor grad av alder og blodtrykk, og disse faktorene bør tas hensyn til ved vurdert risiko for kardiovaskulær sykdom [72].

Økt karstivhet og vaskulær kalsifisering, spesielt i aorta, anses som viktige markører for kardiovaskulær mortalitet hos kronisk nyresyke. Studier gjennomført med død som endepunkt hos kronisk nyresyke som går til hemodialyse viser at vaskulær kalsifisering er en tydelig predikator for kardiovaskulær død og død av andre årsaker [73].

### **1.4.2 Laser Doppler Flowmetri (mikrosirkulasjon)**

Laser Doppler Flowmetri (LDF) gir to ulike mål på endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen. LDF baserer seg på refleksjon fra lyset til laserprobene. Lyset som treffer blodcellene i bevegelse, hovedsakelig røde blodceller, endrer bølgelengde. Dette fenomenet kalles et Doppler skift [74]. Responsen for vasodilatasjon måles som fluks. Fluks er definert som volum av røde blodceller multiplisert med hastigheten de har. Fluksen ble målt ved hjelp av to laserprober festet til kammer på huden. En laserprobe avleser fluksendring for acetylkolin, den andre skal avlese fluks for natriumklorid [67]. Fluks avlesningen foregår kontinuerlig. Avlest fluks er kun en relativ verdi av blodperfusjon, og oppgir ikke absolutt verdi som eksempel blodperfusjon i ml/min [74].

#### ***Iontoforese og endotelspesifikk vasodilatasjon:***

Iontoforese benytter seg av svak likestrøm for å transportere små mengder acetylkolin og natriumklorid inn i huden. Både natriumklorid og acetylkolin er løselige salter som er henholdsvis positivt og negativt ladet og fungerer som katode og anode. Prinsippet bak iontoforese går ut på at likt ladete molekyler frastøter hverandre. Mengden legemiddel som overføres til huden avhenger av både mengde strøm tilført og varigheten av en slik administrasjon. En av mekanismene går ut på at acetylkolin medierer vasodilatasjon via endotelavhengig NO. Her er det omdiskutert om prostanoider også kan være med på å bidra til responsen via endotelavhengige hyperpolariseringsfaktorer [67]. Senere studier støtter teorien at prostanoider også bidrar ved endotelspesifikk vasodilatasjon, sammen med NO [75].

#### ***PORH:***

PORH gir et mål på total vasodilatasjon i endotel i de mikrovaskulære blodårene, og måler generell vasodilatasjon av små blodkar. En benytter seg av okklusjon av arm i tre eller fem minutter, før en hurtig fjerner okklusjonen slik at blodet kan flyte fritt igjen. Okklusjon medfører et lokalt økt trykk i blodåren som medfører en raskere blodstrøm når blodtrykksmansjetten løsnes. Dette gir først en økt respons i blodflow, PeakRh, som deretter normaliserer seg tilbake til målingene gjort i hvile før okklusjon. Dette gjelder for pasienter med god elastisitet i blodårene. Pasienter med stive blodårer og dårlig endotelfunksjon vil en se en svak eller ingen økning i respons i blodflow fra baseline. Det er fire mekanismer som er



foreslått involvert i hyperemi responsen, disse er metabolske vasodilatorer, endotelspesifikke vasodilatorer, myogene responser og sensoriske nerver [74].

### **1.4.3 Endo-PAT (mikrosirkulasjon)**

Endo-PAT undersøker mikrosirkulasjonen i fingertupp ved hjelp av PORH. Endoteltesten er ikke-invasiv og lite påvirket av operatør. Apparatet måler endotelmedierte endringer ved digital pulsølgeform kjent som PAT (peripheral Arterial Tone) signal. Responsen blir automatisk kalkulert i datasystemet, hvor en PAT ratio beregnes ved å bruke post og pre okklusjons verdier. Disse verdiene ble justert mot ikke endotel avhengige systemiske responser i kontrollarmen, denne normaliseringen kontrollerer for fluktuasjoner i sympatiske nervesystemet som kan føre til endringer i PAT som ikke skyldes respons fra okklusjon [76].

## 1.5 Hensikt med oppgaven

Denne oppgaven er delt i to deler, hvor urinsyres assosiasjoner med inflammasjon, vaskulær og mikrovaskulær funksjon er hoveddelen.

### *Del I Hoveddel - Urinsyre:*

Urinsyre er en relativt ny markør som forbindes med nyresykdom og kardiovaskulær sykdom. Om dette skyldes at urinsyre i seg selv er en risiko eller kun en biokjemisk markør grunnet andre årsaker som fører til nyresykdom og kardiovaskulær sykdom er ikke fullstendig kjent. I denne studien skulle respons på karstivhet og endotelfunksjon studeres i forhold til konsentrasjoner av urinsyre. I tillegg var det ønskelig å se om urinsyre kunne assosieres med andre veletablerte inflammasjonsmarkører, samt om urinsyre var negativt assosiert med markører som lenge har vært kjent for å motvirke aterosklerose.

### *Del II:*

Hensikten med oppgaven var å se på assosiasjonen mellom endotelfunksjonsmålinger og metabolske faktorer. Det skulle undersøkes om de tre endoteltestene SphygmoCor, LDF og Endo-PAT korrelerte med hverandre og med kjente inflammasjonsmarkører i blod, og markører som er kjent for å motvirke inflammasjon i blodårer.

## 2 Materialer og metoder

### 2.1 Studiedesign

En assosiasjonsstudie mellom tre ulike endotelfunksjonsmålinger og biokjemiske markører i plasma, med spesiell fokus på urinsyre. Studien var en understudie til ”Urinsyre som risikofaktor ved nyretransplantasjon”, som ser på urinsyre sin eventuelle påvirkning på endotelfunksjonen i blodårene.

I studien ble nyretransplanterte pasienter inkludert fortløpende etter som de kom inn for 10-ukers kontroll på Nyrefysiologisk laboratorium.

Eksklusjonskriterier:

- Mislykkede endotelfunksjonsmålinger ved alle tre målinger.
- Bærer av smittsom sykdom.

### 2.2 Prøvetaking

#### 2.2.1 10-ukers kontroll

Nyretransplanterte ved Rikshospitalet innkalles til 10-ukers kontroll ved Nyrefysiologisk laboratorium for å gjennomgå ulike undersøkelser før de skrives ut, gitt at prøvene er normale. Det tas blodprøver, glukosebelastning, bentetthetsmålinger og karstivhetsundersøkelser med SphygmoCor.

#### 2.2.2 Blod

Fastende blodprøver ble tatt på morgenen ved 10-ukers kontrollen. Et glass med serum og et med EDTA-plasma ble fordelt på Nunc-rør (Nunc Cryo-tube Vials) og oppbevart i ultrafryser (-70 grader). Det ble også tatt blodprøver som ble analysert samme dag ved mikrobiologisk laboratorium.

## 2.3 Blodtrykk

Blodtrykket ble målt ved hjelp av Dyna Map (Tuff.-Cuff, CAS Medical system Inc.). Pasienten var sittende. Målingen ble repetert tre ganger, og gjennomsnittet av de to siste målingene ble benyttet. Blodtrykket ble målt ved 10-ukers undersøkelsesdagen.

## 2.4 Endotelfunksjonsmålinger

### 2.4.1 SphygmoCor

#### *Klinisk informasjon:*

Vekt, høyde, kjønn, og blodtrykk ble registret i dataprogrammet før undersøkelsen ble påbegynt. Verdiene fra undersøkelsene skulle ha et standardavvik på 10 % eller mindre. Et standardavvik mellom 10 til 15 % ble vurdert. Hvis standardavviket overskred 20 % ble undersøkelsen gjentatt. Ved flere forsøk som ga for høyt standardavvik ble undersøkelsen merket som mislykket. Hjerterytmen (HR) skulle være innenfor fem slag per minutt av hverandre (HR bpm), og EKG- rytmen skulle være stabil under hele undersøkelsen.

#### *Praktisk prosedyre:*

SphygmoCor undersøkelsen ble foretatt om morgenen på dagen pasienten skulle inn til 10-ukers kontroll. Pasientene var fastende, men hadde inntatt glukosen for OGTT (se under). Undersøkelsen ble gjennomført ved at pasienten lå hvilende på ryggen på en benk. PWA undersøkelsen ble som rutine gjennomført først. Her ble en tørkerull lagt under pasientens håndledd for å vri vristen opp (dorsiflex posisjon) samtidig som håndleddet lå i hvile. Dette gjorde det lettere å sentralisere pulsen. Ved fistel, store/dype arr eller andre hudtilstander som gjorde undersøkelsen vanskelig, ble venstre hånd benyttet. Pulsbølgen ble registrert ved å holde tonometeret med et lett trykk over den sentraliserte pulsølgen som man først fant ved å kjenne på innsiden av håndleddet. Når pulsølgene på monitorskjermen er konsistente og signalstyrken er over 350 i minst 12 sekunder kan bølgeformene fanges og analyseres av dataprogrammet. Rapporten fra undersøkelsen kommer automatisk opp, her skal operatør indeks være over 80 og standardavviket under 10 %.  $AIx@HR75$  registreres hvis kriteriene er oppfylt.

Ved PWV undersøkelsen festes tre EKG elektroder på pasienten ved adhesiv teip, en på hvert håndledd og en på venstre ankel som monitorer hjerterytmen. Undersøkelsen ble ikke

gjennomført hvis det ble større avvik i hjerterytmen, eller flere dobbeltslag fra hjertet som kom tett på hverandre. Pulsene registreres på motsatt side i lysken av der det er satt inn transplantat og pulsen registreres i halsen. Tonometer bølgeformene skal være klare og glatte, med et tydelig skille slik at foten til bølgetoppen lett kan identifiseres før pulsølgene kan fanges og analyseres. Standardavviket for PWV bør være under 6 %.

## 2.4.2 Laser Doppler Flowmetri

### *Praktisk prosedyre:*

Undersøkelsen ble gjennomført tidlig på morgenen uke ni eller ti etter transplantasjon, samme dag som Endo-PAT. Pasienten var fastende og ikke hadde tatt medisiner. 1 % acetylkolinløsning ble tillaget samme morgen, hvor 10 mL deionisert og sterilt vann ble tilsatt et 10 mL hetteglass med 100 milligram frysetørret acetylkolin (Acetylkolinklorid, Ullevål Sykehusapotek). Pasienten ble liggende på ryggen med høyre arm hvilende på en pute slik at armen lå i en avslappet stilling med underarmen opp. Blodtrykksmansjett ble festet på høyre overarm, med mindre pasient hadde AV-fistel, da ble venstre arm benyttet ved undersøkelse. Huden på underarmen ble vasket med sprit, vann og deretter sprit igjen for å fjerne døde hudrester, såpe og eventuell bodylotion. To prober (DPT1T/7 large area probe, Moor Instruments, UK) ble festet i henholdsvis katode og anode kammer før de ble festet på huden. Ionekamrene (Perspex ionekamre med platina elektrode ION Moor Instruments Ltd., Axminster, Uk. 30 mm total diameter \* 7 mm høyde; indre kammer 9,5 mm diameter \* 2 mm høyde) med prober ble festet til huden på underarmen ved hjelp av dobbeltsidig teip tilpasset kamrene. Områder med hår, arr, store blodårer eller skadet hud ble unngått. Kamrene ble festet slik at baseline-fluks målt av LDF-probene stabiliserte seg mellom 15-25 arbitrære enheter (AU). Acetylkolinløsning og 5 % natriumkloridløsning ble tilsatt til hvert sitt kammer. Kamrene ble sjekket for luftbobler før iontoforeseprogram ble igangsatt. Når pasienten hadde akklimatisert og stabilisert seg på baseline-fluks ble iontoforeseprogrammet igangsatt (MIC 1, Moor Instruments ltd., UK). Acetylkolin ble overført ved fire stigende strømstyrker på 50, 75, 100 og 150  $\mu$ A. Strømmen varte i 10 sekunder og ble etterfulgt av 6-minutters baseline måling. Når siste 6-minuttersmåling var ferdig var det fire minutter til å feste på et nytt tomt kammer hvor laserproben for acetylkolin ble satt inn. Deretter ble fire minutter baseline målt, før tre minutter okklusjon med blodtrykksmansjetten pumpet opp til 280 mmHg. Deretter ble trykket sluppet ut og reaktiv hyperemi ble målt.

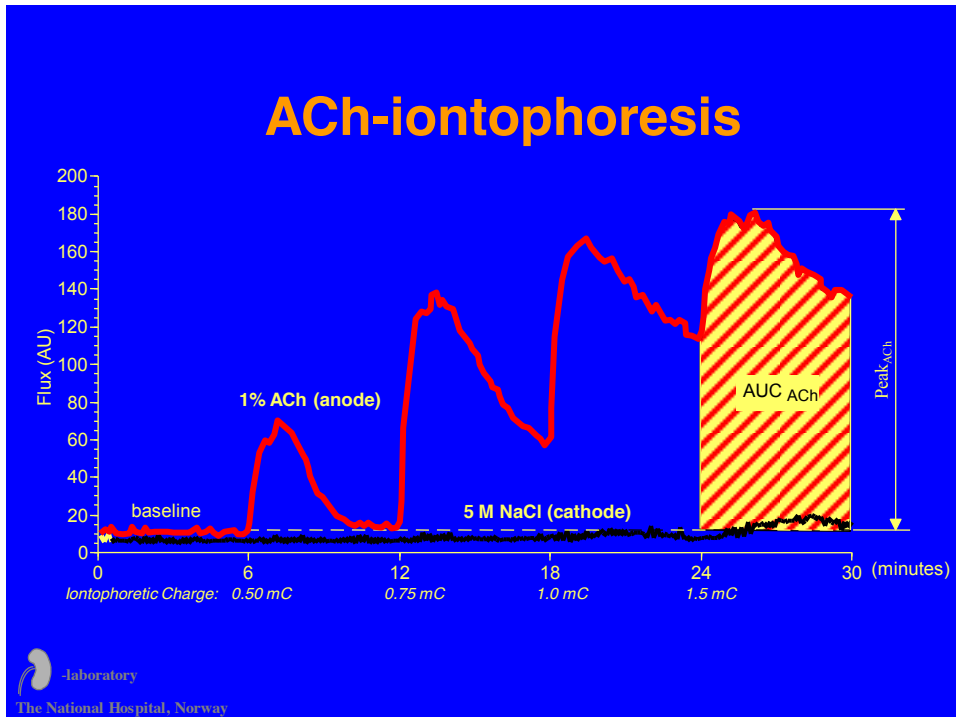
**Beregninger:**

Fluksendringer ble målt med DRT4 (Laser Doppler Perfusion and Monitor, DRT4, Moor Instruments Ltd, England). Disse endringene ble videre analysert ved hjelp av MoorSOFT software package (Laser Doppler Perfusion Monitor, 2.0, Moore Instruments Ltd., UK).

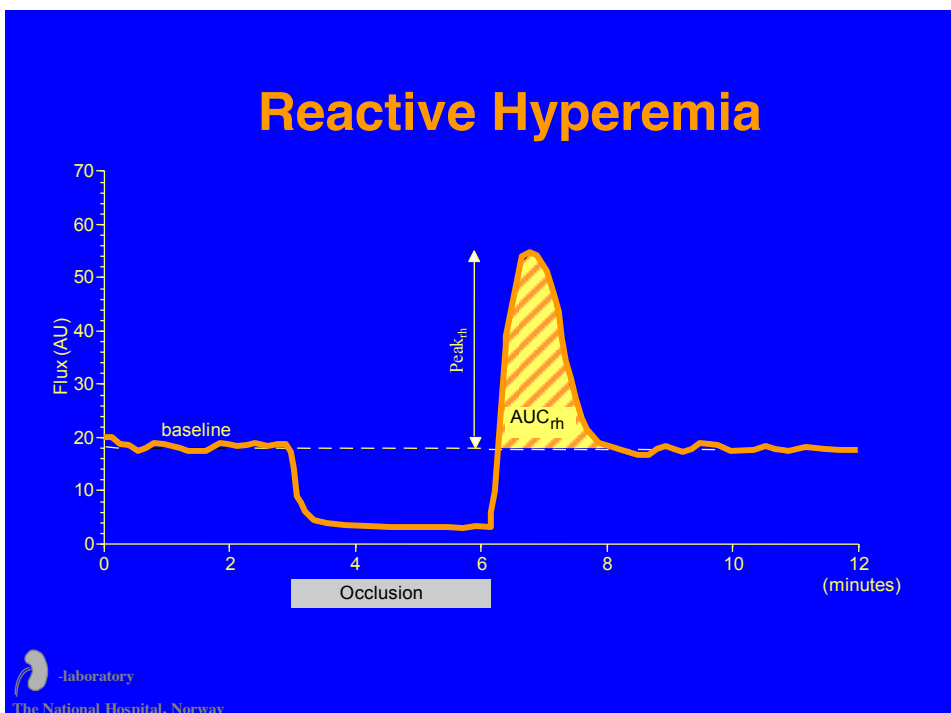
Baseline ble beregnet som gjennomsnittet i fluks tiden tre minutter før iontoforeseprogrammet begynte. Endotelavhengig respons på acetylkolin ble beregnet som AUC for acetylkolin i den monitoreringsperioden på seks minutter etterstimulering med siste strøm på 150  $\mu\text{A}$ . AUC for acetylkolin ble avlest direkte i dataprogrammet MoorSOFT under statistikk. AUC for katoden som inneholdt natriumklorid virket som kontrollmåling på usepesifikk vasodilatasjon. Det ble satt en cut-off verdi på 20 AU\*min. Figur 2.1 viser tid versus flukskurve etter iontoforese av ACh og natriumklorid ved 50  $\mu\text{A}$ , 75  $\mu\text{A}$ , 100  $\mu\text{A}$  og 150  $\mu\text{A}$ .

For PORH ble baselineverdien beregnet ut i fra gjennomsnittlig fluks tre minutter før okklusjon. Figur 2.2 viser tid versus fluks for PORH. AUC for reaktiv hyperemifasen ble direkte avlest i statistikk i dataprogrammet MoorSOFT.

AUC er arealet under kurven for fluks-versus tidskurven ved Laser Doppler.



**Figur 2.1:** Tid versus fluks kurve etter iontopforese av ACh og NaCl ved  $50 \mu A$ ,  $75 \mu A$ ,  $100 \mu A$  og  $150 \mu A$  [77].



**Figur 2.2:** Tid versus fluks kurve for PORH [77].

### 2.4.3 Endo-PAT

#### *Praktisk prosedyre:*

Endo-PAT (Endo-PAT 2000 Itamar Medical) undersøkelsen ble utført tidlig om morgenen i uke ni eller ti etter transplantasjon, samme dag som LDF ble utført. Før undersøkelsen ble ringer og klokker fjernet. Pasienten lå hvilende på rygg på en undersøkelsesbenk. Luften i PAT-probene slippes ut før påføring på hver pekefinger. Deretter blåses luft inn igjen i probene slik at de ble festet rundt fingrene. Dette gjøres ved hjelp av tilhørende dataprogram. Et skumanker blir fester på hver langfinger, for å hindre kontakt fra ledning og langfinger med PAT-probene. Under undersøkelsen skal ikke probene være i kontakt med noe annet objekt en fingeren de er festet til. Armene hviles på hvert sitt armlene langs med kroppen, slik at fingrene henger fritt over kanten på armlenene. En blodtrykksmansjett blir festet på underarm uten fistel, hovedsakelig høyre arm. Proben på armen med avklemming måler vasodilatasjon og den andre proben virker som kontroll for å avdekke eventuell uspesifikk dilatasjon. Før undersøkelsen ble startet sjekkes det at probene ikke lekker luft og at signalet fra probene ikke støyer. Under undersøkelsen ble det snakket minst mulig for å ikke påvirke resultatene. Det måles først baseline i 15 minutter. Deretter blåses mansjetten opp slik at det blir okklusjon i fem minutter, før luften slippes ut og reaktiv hyperemi måles. Resultatene analyseres automatisk av tilhørende Endo-PAT dataprogram. LnRHI (naturlig logaritme av reaktiv hyperemi) er post-til-pre okklusjons ratio av PAT signal av okkludert arm, relativt til samme ratio som i kontrollarm, korrigert for baseline i okkludert arm.



## 2.5 Oral glukosetoleransetest

### *Metode:*

Oral glukosetoleransetest (OGTT) benyttes for å få et mål på pasientens glukosetoleranse.

Det ble benyttet referanseverdier fra Verdens helseorganisasjon (WHO):

- Diabetes:
  - Fastende plasmaglukose:  $\geq 7.0$  mmol/L
  - eller:
  - 2 timers plasmaglukose:  $\geq 11.0$  mmol/L

Dette er gitt at det utføres en standard glukosebelastning med 75 gram glukose [78].

### *Praktisk prosedyre:*

Ved oppmøte til 10-ukers kontroll ble det først tatt blodprøver fra albuehasen. Pasientene møtte fastende og hadde ikke inntatt dagens medikamenter. 75 gram glukose (Glucosum anhydricum ad usum parenterale, Apotekproduksjon AS) ble rørt ut i 3 dl oppkokt vann til alt ble oppløst. Pasienten måtte få i seg hele væskevolumet peroralt. Hvis pasienten ønsket det kunne en liten mengde sitronkonsentrat tilsettes glukosen for å dempe det søte. Glukose i fullblod ble målt rett før inntak av oppløst glukose i vann og to timer etter inntak av glukose. Det ble benyttet kyvetter og kalibrert glykometer for blodverdier fra samme produsent (HemoCue glucose 201, Ängelholm Sverige) ved målingen.

Pasientene ble delt i gruppene normoglykemi, IGT og diabetes. Diabetes er definert som de som har påvist diabetes før glukosebelastning ved 10-ukers kontroll. Normoglykemi defineres pasientene med blodglukose ved 2 timers OGTT er under 7,8 mmol/L, gruppen med blodglukose over 7,8 mmol/L defineres som IGT.

## 2.6 Analyse av biokjemiske markører

### 2.6.1 NO

#### *Bakgrunn for analysen:*

NO ble analysert med kit fra R&D Systems (Parameter™, Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite), hvor assay for måling av total nitritt konsentrasjon ble fulgt. I dette assayet ble nitrat enzymatisk omdannet til nitritt ved bruk av nitrat reduktase.

#### *Praktisk prosedyre:*

Fryste prøver med EDTA-plasma ble tint i varmeskap. Deretter ble 350 mikroliter plasma filtrert gjennom filter med cut-off på molekylvekt (MW) 10 000 (Amicon® Ultra-0.5 Centrifugal Filter Devices). Mikrosentrifugerørene med filter ble sentrifugert ved 11 400 rcf i 45 minutter (Eppendorf Centrifuge 5417 R, 5424 R). Dette trinnet ble utført for å fjerne store plasmaproteiner som kunne påvirke analysen. Plasmaprøvene ble to ganger fortynnet med fortynningsløsning før påbegynnelse av assay. 980 µL nitrat reduktase ble fortynnet med 3960 µL fortynningsløsning. Tabell 2.3 viser oversikt over pipettering ved analyse av NO.

**Tabell 2.3:** Oversikt over pipettering i de respektive brønnene på mikroplaten ved analyse av NO, volum oppgitt i µL.

	<b>Null- standard:</b>	<b>Standardrekke (rad 1-2):</b>	<b>Pasientprøver (rad 3-12):</b>
Fortynningsløsning	50	-	-
Nitratreduktase	-	50	-
Fortynnete pasientprøver	-	-	50
Fortynnet NADH	25	25	25
Fortynnet nitratreduktase	25	25	25
Griess reagens I	50	50	50
Griess reagens II	50	50	50

### ***Analysens karakteristika:***

I følge leverandøren av kitet hadde denne analysen en gjennomsnittlig variasjonskoeffisient for intra-assay presisjon på 1,4 % og inter-asay presisjon på 3,6% som innebærer at denne metoden gir liten variasjon. Recovery var oppgitt til å gjennomsnittlig være 98 % for prøver i plasma. Alle prøver og kontroller ble analysert i paralleller på samme mikroplate.

## **2.6.2 ICAM-1**

### ***Praktisk prosedyre:***

Det ble benyttet kommersielle ELISA-kit fra R&D systems (Quantikine ELISA Human sICAM-1/CD54). Mikrobrønnene var på forhånd coatet med antistoff spesifikt for sICAM-1. sICAM-1 standard og pasientprøver ble fortynnet i kalibrator diluent. Tabell 2.4 viser en oversikt over pipettering ved analyse av ICAM-1.

**Tabell 2.4:** *Oversikt over pipettering i de respektive brønnene på mikroplaten ved analyse av ICAM-1, volum oppgitt i  $\mu$ L.*

	<b>Nullstandard:</b>	<b>Standardrekke (rad 1-2):</b>	<b>Pasientprøver (rad 3-12):</b>
Kalibrator diluent	100	-	-
sICAM-1 standard	-	100	-
Fortynnede pasientprøver	-	-	100
Vaskebuffer	3 x 400	3 x 400	3 x 400
Substratløsning	200	200	200
Stoppløsning	50	50	50

### ***Validering:***

I følge leverandøren av kitet hadde denne analysen en gjennomsnittlig variasjonskoeffisient for intra-assay presisjon på 5,2 % og inter-asay presisjon på 5,4% som innebærer at denne metoden gir liten variasjon.

### 2.6.3 Adiponektin og von Willebrand faktor:

Platene ble coatet med humant antistoff fra R&D systems fortynnet i BSA (fosfatbuffer saline) 0,1 % for adiponektin og von Willebrand faktor. Pasientprøvene ble fortynnet henholdsvis 5000 og 20 ganger med 0,1 % BSA før analyse av adiponektin og von Willebrand faktor. Før pasientprøvene ble applisert i duplikat ble mikrobrønnene vasket med vaskebuffer tre ganger med automatvasker (SkanWasher 300 Version B). Oversikt over pipettering ved adiponektin analyse er oppgitt i tabell 2.5, tabell 2.6 viser pipettering ved analyse av vWf.

**Tabell 2.5:** Oversikt over pipettering i de respektive brønnene på mikroplaten ved analyse av adiponektin, volum oppgitt i  $\mu\text{L}$ .

	Null-standard	Standardrekke (rad 1-2)	Pasientprøver (rad 3-12)
0,1 % BSA	75	-	-
Adiponektin-standard	-	75	-
Fortynnede pasientprøver	-	-	75
Streptavidin	50	50	50
TMB	50	50	50
2 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	50	50	50

**Tabell 2.6:** Oversikt over pipettering i de respektive brønnene på mikroplaten ved analyse av von Willebrand faktor, volum oppgitt i  $\mu\text{L}$ .

	Null-standard	Standardrekke (rad 1-2)	Pasientprøver (rad 3-12)
0,1 % BSA	75	-	-
vWf-standard	-	75	-
Fortynnede pasientprøver	-	-	75
TMB	50	50	50
2 N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	50	50	50

***Validering:***

Analysene av von Willebrand faktor og adiponektin blir til vanlig analysert ved endokrinologisk laboratorium på Rikshospitalet som har validert disse analysene.

**2.6.4 Beregninger**

Alle standarder og pasientprøver ble pipettert i duplikater. Konsentrasjonene i mikrobrønnene ble beregnet ved dataprogrammet Genesis. Gjennomsnittskonsentrasjonen til duplikatene ble benyttet. Databehandlingsprogrammet Genesis lagde standardkurver for alle ELISA-analysene (OD versus konsentrasjon). Fortynningsfaktoren ble tatt hensyn av dataprogrammet ved analysering av mikrobrønnene. Fortynningsfaktoren var gitt fra R&D systems til å være 2, 20, 20 og 5000 for henholdsvis NO, vWf, ICAM-1 og adiponektin.

**2.6.5 Andre biokjemiske markører**

Resterende biokjemiske markører ble analysert ved medisinsk biokjemisk laboratorium ved Rikshospitalet undersøkelsesdagen for 10-ukers kontroll. Resterende markører var triglysesrider, kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, C-reaktivt protein og kreatinin.

## 2.7 Statistikk

Statistikken ble analysert ved hjelp av dataprogrammet SPSS versjon 20. Demografiske data ble oppgitt som median (range), eller som gjennomsnitt (standardavvik) ved normalfordelte data. Stigningstallet (beta) og p-verdi ble registrert i tabeller for alle analysene. Ujusterte analyser ble brukt for all statistikk, og justerte der det var hensiktsmessig. Ujusterte analyser vil si at det kun er de to faktorene i samme analyse som stilles mot hverandre, det blir ikke korrigerert for andre faktorer som kan påvirke dette resultatet. Ved justerte analyser korrigeres det for faktorer som kan være med å påvirke assosiasjonen.

Beta fra lineære regresjonsmodeller indikerer forandring i målt markør per enhets økning i kontinuerlige faktorer, tilstedeværelse av dikotome variabler eller for kategoriske variabler mot referansekategori.

Grafer ble fremstilt med linje for lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet.

Statistisk signifikans ble satt til p-verdi  $< 0,05$ .

### ***Del I Hoveddel:***

Det ble utført regresjonsanalyser hvor urinsyre var avhengig variabel. Uavhengige variabler var alder, kjønn, diabetes, IGT, blodmarkører og respons på endoteltestene. Analysene ble ført i tabell for ujustert og justert for alder, kjønn, BMI og eGFR. Scatterplot med lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet ble tatt med for resultater av interesse.

### ***Del II:***

Det ble sett på assosiasjon mellom endoteltestene og alder, kjønn, diabetes, IGT, blodmarkører og resterende endoteltester. Det ble gjennomført ujusterte regresjonsanalyser.

# 3 Resultater

## 3.1 Pasienter

85 pasienter ble inkludert. Fem pasienter ble ekskludert på grunn av manglete data ved alle endotelfunksjonsmålingene, en pasient ble også ekskludert i ettertid på grunn av smittsom sykdom. De fire pasientene hvor ingen av målingene lot seg gjennomføre hadde alle en bakgrunn med diabetes fra ungdomstid. Demografiske data og biokjemiske markører på de gjenstående 79 pasientene vises i Tabell 3.1.

Av pasientene med diabetes som har utviklet nyresykdom på grunn av nefropati, har to pasienter en blanding av diabetes og hypertensjon som betinget faktor. Tre av pasientene med diabetes uten nefropati har utviklet nyresvikt grunnet cystenyrrer. Den fjerde pasienten med diabetes som ikke har nefropati har en lang bakgrunn med fibromyalgi, røyk, KOLS og diabetes mellitus type I.

CRP verdier under 0,6 mg/L var lavest mulig verdi som kunne måles ved mikrobiologisk laboratorium ved Rikshospitalet. For de 13 pasientene med verdier fra 0,6 mg/L eller lavere, er CRP gitt til å være 0,6 mg/L i denne oppgaven.

**Tabell 3.1:** Demografiske data og biokjemiske markører i 79 transplanterte pasienter ved 10-ukers kontroll, oppgitt i antall (%) eller gjennomsnitt  $\pm$  SD eller median (range).

<b>Demografiske data:</b>	
Alder (år)	56 (24-77)
Menn	48 (60,8%)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25,0 (16,7-34,6)
Systolisk blodtrykk	134 $\pm$ 2
Diastolisk blodtrykk	82 $\pm$ 1
Pulstrykk	48 (28-100)
Diabetes nefropati	10 (12,7%)
Diabetes uten nefropati	4 (5,1%)
Dialysebehandlet før transplantasjon	33 (41,8%)
Første transplantasjon	65 (82,3%)
Nyre-pankreas transplantert	4 (5,1%)
Dialysetid (måned) før transplantasjon	6 (1-66)
Levende giver transplantasjon	23 (29,1%)
Estimert GFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> ) *	52,9 $\pm$ 15,6
<b>Biokjemiske markører:</b>	
CRP (mg/L)	1,7 (0,6-23)
ICAM (ng/mL)	192,2 (68,1-722,7)
Adiponektin ( $\mu$ g/mL)	9,9 (2,1-31,3)
Von Willebrand faktor (AU)	145,3 (12,9-750,8)
Urinsyre ( $\mu$ mol/L)	366 (217-650)
Glukose (mmol/L)	5,6 (3,9-14,2)
Kolesterol (mmol/L)	6,2 $\pm$ 1,4
LDL-kolesterol (mmol/L)	3,8 $\pm$ 1,2
Triglyserider (mmol/L)	1,6 $\pm$ 0,6-5,3
HDL-kolesterol (mmol/L)	1,5 $\pm$ 0,4
NO ( $\mu$ mol/L)	29,9 (12,3-98,9)

\*GFR beregnet ved hjelp av MDRD-ligningen for å estimere GFR for de pasientene med en GFR over 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> [79].



### 3.1.1 Immunosuppressiv behandling

Tabell 3.2 viser immunosuppressiv behandling ved 10-ukers kontroll hos de inkluderte pasientene som kan ha påvirkning på urinsyrekonentrasjonen. Oversikt over andre legemidler benyttet av to eller flere pasienter er gjengitt i appendiks. Alle pasientene benyttet mykofenolat mofetil eller mykofenolat natrium i behandlingen. En pasient brukte Everolimus.

**Tabell 3.2:** Oversikt over immunosuppressiv behandling hos pasientene, oppgitt som antall og dose (mg/døgn) i gjennomsnitt og  $\pm$  SD

Type medikament	Antall (n = 79)	Dose (mg/døgn)
Takrolimus	74	5,1 $\pm$ 0,3
Ciklosporin	4	195 $\pm$ 32
Prednisolon	76	9,9 $\pm$ 0,3

## 3.2 Oral glukosetoleranse

Oral glukosetoleransetest ble utført på alle som ikke var diagnostisert med diabetes, i alt 65 pasienter. Totalt 14 pasienter hadde påvist diabetes før 10-ukers kontroll og gjennomgikk dermed ikke glukosebelastning. I de statistiske analysene ble diabetes og IGT inkludert som kategoriske variabler med normoglykemi som referansegruppe. Tabell 3.3 oppgir antall pasienter i hver glukosemetabolisme gruppe.

**Tabell 3.3:** 79 pasienter fordelt i grupper etter glukosemetabolisme, oppgitt i antall.

Normoglykemi	50
IGT	15
Diabetes	14

### 3.3 Del I – Hoveddel: Urinsyre

Statistiske regresjonsanalyser for urinsyres assosiasjon med endotelfunksjon og karstivhet er oppgitt i tabell 3.4.

#### 3.3.1 Vaskulær og mikrovaskulær funksjon

**Tabell 3.4:** Regresjonsanalyser som viser urinsyre assosiasjoner med endotelfunksjon, oppgitt i ujustert og justert for alder kjønn og BMI med beta (95 % konfidensintervall) og p-verdi.

	Ujustert		Justert for alder, kjønn, BMI:	
	Beta (95% CI)	p-verdi	Beta (95% CI)	p-verdi
<b>SphygmoCor (n=79)</b>				
PWV (m/s)	0,13(-6,72-6,98)	0,97	-2,40(-10,36-5,55)	0,55
<b>Endo-PAT (n=47)</b>				
lnRHI	9,54(-68,76-87,83)	0,81	23,39(-55,70-102,47)	0,55
<b>LDF (n=14)</b>				
AUC ACh (AU*min)	0,39(0,11-0,67)	0,01	-	-
AUC rh (AU*min)	1,84(-3,63-7,31)	0,47	-	-

Den eneste signifikante assosiasjonen var mellom mikrovaskulær funksjon (LDF AUC<sub>ACh</sub>) og urinsyre. Det ble vist en ujustert positiv signifikant assosiasjon 0,39 (0,11-0,67) (p = 0,01).

### 3.3.2 Demografiske data, glukosemetabolisme og nyrefunksjon

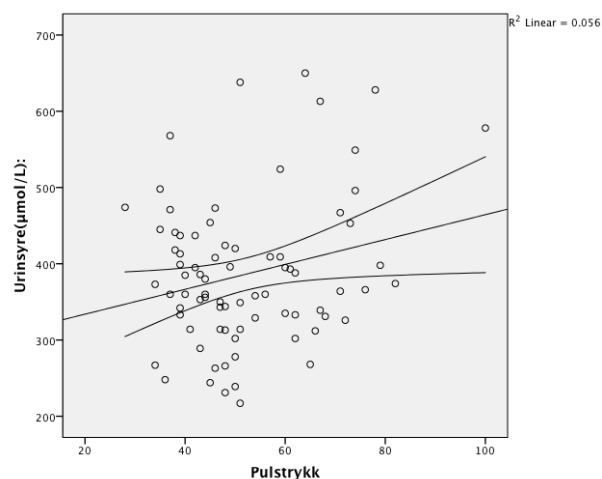
Statistiske regresjonsanalyser for urinsyres assosiasjon med metabolske faktorer er oppgitt i tabell 3.6.

**Tabell 3.6:** Regresjonsanalyser som viser urinsyres assosiasjon med metabolske faktorer oppgitt i ujustert og justert for alder, kjønn BMI og eGFR med beta (95 % konfidensintervall) og p-verdi.

	Ujustert		Justert for alder, kjønn, BMI, eGFR	
	Beta (95% CI)	p-verdi	Beta (95% CI)	p-verdi
<b>Demografiske data:</b>				
Alder (år)	0,73(-1,12-2,57)	0,43	-0,90(-2,39-0,65)	0,26
Kjønn (mann)	42,5(-4,88-89,93)	0,08	24,96(-13,37-63,28)	0,20
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	5,45(-0,22-11,13)	0,06	3,29(-1,31-7,90)	0,16
<b>Blodtrykk:</b>				
Systolisk blodtrykk (mmHg)	0,61(-1,02-2,23)	0,46	0,43(-0,99-1,86)	0,55
Diastolisk blodtrykk (mmHg)	-2,18(-4,44-0,08)	0,06	-1,58(-3,46-0,31)	0,10
Pulstrykk (SBT-DBT)	1,63(0,11-3,16)	0,04	1,63(0,08-3,19)	0,04
<b>Glukosemetabolisme:</b>				
Normoglykemi	Referanse	Ref.	Referanse	Ref.
IGT	53,73 (-0,37- 107,84)	0,05	44,51 (-3,13-92,14)	0,08
Diabetes	-12,13 (-69,08-44,81)	0,67	-14,06 (-65,64-37,52)	0,59
Dialysetid (måneder)	2,07(0,65-3,48)	0,01	1,34(0,16-2,52)	0,03
<b>Nyrefunksjon:</b>				
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )*	-3,53(-4,8- -2,24)	0,00	-3,32(-4,56- -3,07)	0,00

\*GFR beregnet ved hjelp av MDRD-ligningen [79].

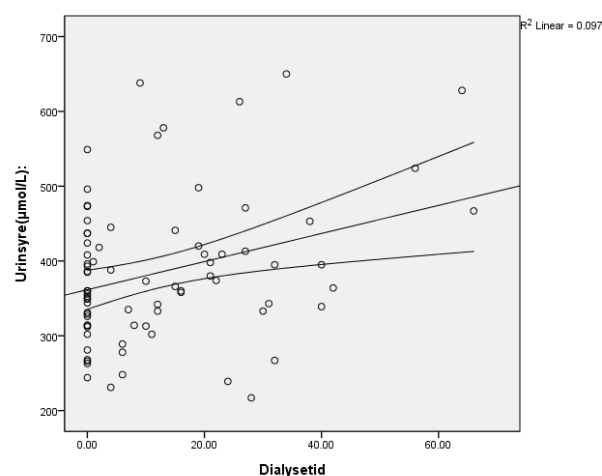
Urinsyre konsentrasjonene stiger ved økt pulstrykk, som illustrert i figur 3.7 Denne assosiasjonen holder seg også ved justering av analysene. P-verdien for justerte og ujusterte analyser holder seg signifikant og lik for begge analysene ( $p = 0,4$ ). Ved å øke urinsyre med en enhet, øker pulstrykket med 1,63 for justert og ujustert analyse.



**Figur 3.7:** Urinsyre assosiert med pulstrykk, oppgitt med lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet.

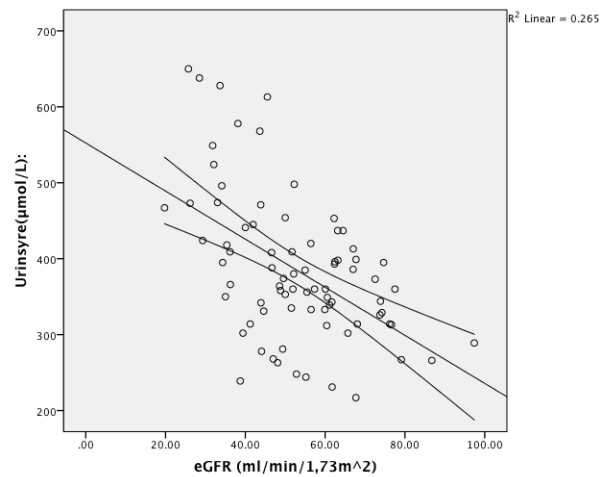
BMI er svakt assosiert med urinsyre ved ujusterte analyser, men denne assosiasjonen er ikke signifikant. Assosiasjonen frafaller helt ved justerte analyser.

Som vist i figur 3.8 er urinsyre signifikant assosiert med dialysetid for både ujustert 2,07(0,65-3,48) ( $p = 0,01$ ) og justert 1,34(0,16-2,52) ( $p = 0,03$ ).



**Figur 3.8:** Urinsyre assosiert med dialysetid, oppgitt med lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet.

Urinsyre viser en signifikant assosiasjon med eGFR for både ujusterte og justerte analyse. Denne assosiasjonen går ut på at nyrefunksjonen målt ved eGFR går ned ved økt urinsyre,  $-3,53(-4,8- -2,24)$  ( $p = 0,00$ ) og  $-3,32(-4,56- -3,07)$  ( $p = 0,00$ ) for justert analyse. Denne assosiasjonen er vist i figur 3.9.



**Figur 3.9:** Urinsyre assosiert med eGFR, oppgitt med lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet.

### 3.3.3 Biokjemiske markører

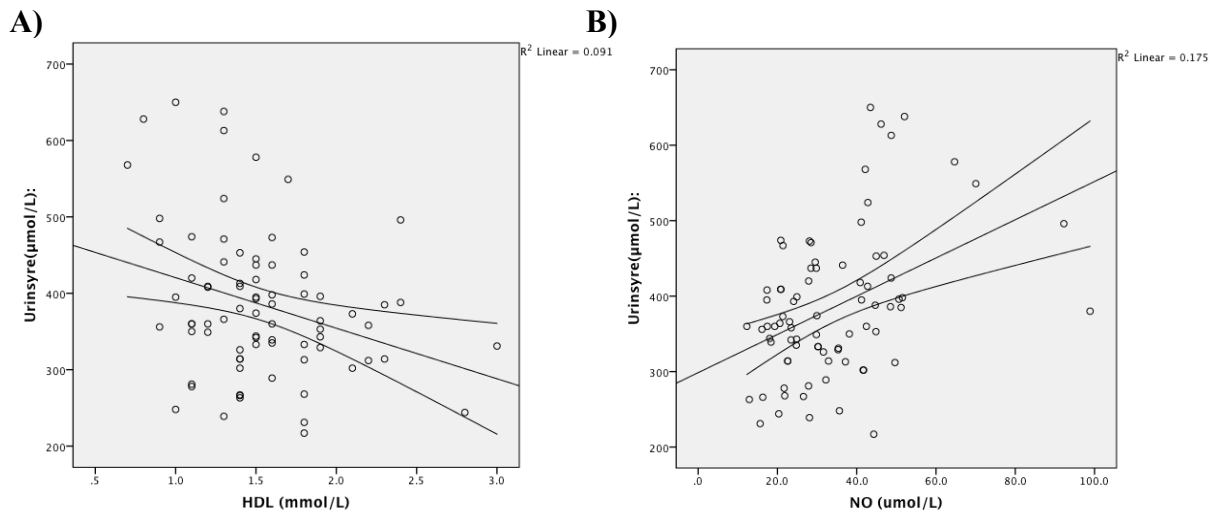
Statistiske regresjonsanalyser som viser urinsyres assosiasjoner med biokjemiske markører er oppgitt i tabell 3.10.

**Tabell 3.10:** Regresjonsanalyser som viser urinsyres assosiasjoner med biokjemiske markører oppgitt i ujustert og justert for alder, kjønn BMI og eGFR med beta (95 % konfidensintervall) og p-verdi.

	Ujustert		Justert for alder, kjønn, BMI, eGFR	
	Beta (95% CI)	p-verdi	Beta (95% CI)	p-verdi
NO (µM)	2,71(1,35-4,06)	0,00	1,95(0,83-3,07)	0,00
Kolesterol (mmol/L)	-1,55(-18,35-15,24)	0,85	0,64(-13,08-14,37)	0,93
HDL (mmol/L)	-63,45(-115,55- -11,35)	0,02	-39,24(-88,44-9,96)	0,12
LDL (mmol/L)	-1,97(-22,09-18,15)	0,85	0,50(-15,45-16,44)	0,95
Triglyserider (mmol/L)	22,22(-0,17-44,61)	0,05	14,13(-4,65-32,90)	0,14
CRP (mg/L)	5,21(-0,49-10,90)	0,07	3,87(-0,80-8,53)	0,10
Adiponektin (µg/mL)	-0,71(-5,41-3,99)	0,76	0,04(-4,28-4,37)	0,98
Von Willebrand faktor (AU)	0,19(0,01-0,37)	0,04	0,16(0,02-0,31)	0,03
ICAM (ng/mL)	0,23(-0,02-0,47)	0,07	0,27(0,08-0,46)	0,01

Som vist i tabell 3.10 og figur 3.11 A viser urinsyre en negativ signifikant assosiasjon med HDL-kolesterol ved ujusterte analyser -63,45(-115,55- -11,35) (p = 0,02). Ved justering av analysene er ikke denne assosiasjonen lenger signifikant.

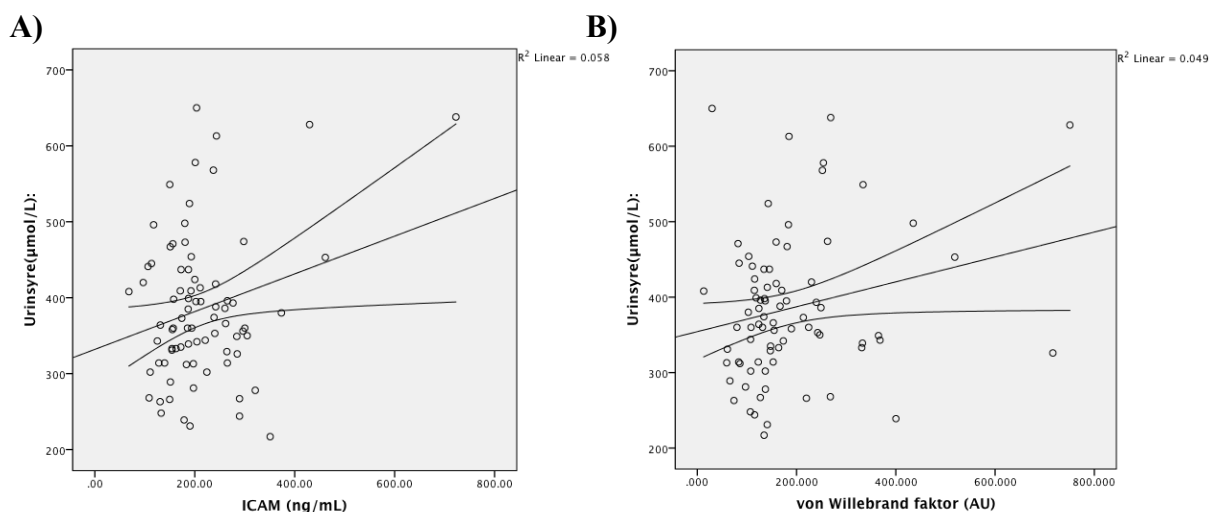
Urinsyre viser en positiv signifikant assosiasjon med NO for ujusterte 2,71 (1,35-4,06) (p = 0,00) og justerte analyser 1,95 (0,83-3,07) (p = 0,00), vist i figur 3.11 B.



**Figur 3.11:** Urinsyre assosiert med de antiinflammatoriske markørene A) HDL og B) NO, grafene er oppgitt med lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet.

Som vist i tabell 3.10 og figur 3.12 A viser ICAM en assosiasjon med urinsyre ved ujusterte analyser, selv om denne assosiasjon ikke er signifikant 0,23 (-0,02-0,47) ( $p = 0,07$ ). Ved å justere analysene med alder, kjønn, BMI og eGFR ble det en signifikant positiv assosiasjon 0,27 (0,08-0,46) ( $p = 0,01$ ).

Urinsyre er signifikant positivt assosiert med vWF ved ujusterte 0,19 (0,01-0,37) ( $p = 0,04$ ) og ujusterte analyser 0,16 (0,02-0,31) ( $p = 0,03$ ), vist i figur 3.12 B.



**Figur 3.12:** Urinsyre assosiert med de inflammatoriske markørene A) ICAM og B) von Willebrand faktor, oppgitt med lineær regresjon og 95 % konfidensintervall for gjennomsnittet.

## 3.1 Del II – Vaskulær og mikrovaskulær funksjon

### 3.1.1 SphygmoCor pulse wave velocity (karstivhetsmåling)

SphygmoCor ble undersøkt på alle de 79 inkluderte pasientene ved 10-ukers kontroll.

Statistiske regresjonsanalyser for faktorer assosiert med karstivhet er oppgitt i tabell 3.13.

**Tabell 3.13:** Regresjonsanalyser som viser karstivhets assosiasjoner med demografiske data, biokjemiske markører og endoteltester, oppgitt i beta, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

	Ujustert	
	Beta (95% CI)	p-verdi
Alder	0,15 (0,10-0,2)	0,00
Kjønn (mann)	0,25 (-1,37-1,87)	0,76
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,07 (-0,26-0,13)	0,51
Systolisk blodtrykk(mmHg)	0,05 (-0,00-0,11)	0,05
Diastolisk blodtrykk (mmHg)	-0,06 (-0,14-0,02)	0,12
Normoglykemi	Referanse	Referanse
IGT	2,08 (0,16-3,99)	0,03
Diabetes	2,37 (0,29-4,45)	0,03
Dialysetid (måneder)	0,09 (0,04-0,13)	0,00
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )*	-0,03 (-0,08-0,02)	0,21
NO (µmol/L)	0,01 (-0,05-0,05)	0,86
Kolesterol (mmol/L)	-0,44 (-1,0-0,11)	0,12
HDL (mmol/L)	0,49 (-1,32-2,30)	0,59
LDL (mmol/L)	-0,64 (-1,30-0,02)	0,06
Triglyserider (mmol/L)	0,10 (-0,67-0,87)	0,79
CRP (mg/L)	0,07 (-0,12-0,26)	0,48
Urinsyre (µmol/L)	0,00 (-0,01-0,01)	0,89
Adiponektin (µg/mL)	0,11 (-0,05-0,27)	0,16
Von Willebrand faktor (AU)	0,01 (0,00-0,01)	0,06
ICAM (ng/mL)	-0,00 (-0,01-0,01)	0,60
Endo-PAT (lnRHI)	1,08 (-1,55-3,70)	0,41
LDF AUC ACh AU*min	-0,01 (-0,02-0,01)	0,37
AUC rh AU*min	0,01 (-0,13-0,15)	0,85

\*GFR beregnet ved MDRD-formelen [79].



Dialysetid viser en signifikant assosiasjon med karstivhet 0,09 (0,04-0,13) ( $p = 0,00$ ). Alder viser en assosiasjon med økende karstivhet som er signifikant 0,15 (0,10-0,2) ( $p = 0,00$ ).

Som vist i tabell 3.13 har pasienter med diabetes en signifikant assosiasjon med karstivhet på 2,37 (0,29-4,45) ( $p = 0,03$ ), det samme gjaldt for IGT pasienter med en økning på 2,08 (0,16-3,99) ( $p = 0,03$ ).

Ingen av de inflammatoriske eller kjente antiinflammatoriske faktorene hadde en signifikant assosiasjon med karstivhet. vWf og LDL viste en svak positiv assosiasjon, men den var ikke signifikant.

Som tabellen i appendiks gjengir ble det ikke vist assosiasjon mellom SphygmoCor og de to andre endoteltestene Endo-PAT og LDF.

### 3.1.2 Laser Doppler Flowmetri (mikrovaskulær funksjon)

LDF ble undersøkt på 15 pasienter. En pasient ble ekskludert grunnet sykehusinnleggelse slik at undersøkelser og blodprøvetaking ikke ble gjennomført. Statistiske regresjonsanalyser er oppgitt i tabell 3.15.

**Tabell 3.15:** Regresjonsanalyser som viser endotelspesifikke assosiasjoner med demografiske data, biokjemiske markører og endoteltester oppgitt i beta, 95 % konfidensintervall og p-verdi.

	Ujustert	
	Beta (95% CI)	p-verdi
Alder (år)	-1,47(-8,92-5,98)	0,67
Kjønn (mann)	59,59(-168,8-287,97)	0,58
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-16,61(-58,51-25,29)	0,40
Systolisk blodtrykk(mmHg)	0,06(-9,68-9,80)	0,99
Diastolisk blodtrykk (mmHg)	-1,60(-20,46-17,27)	0,86
Normoglykemi	Referanse	Referanse
IGT	-59,20 (-400,51-282,11)	0,71
Diabetes	-61,89 (-403,21-279,42)	0,70
Dialysetid (måneder)	4,81(-2,07-11,69)	0,15
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )*	-3,36(-10,12-3,41)	0,30
NO (µmol/L)	6,19(-1,60-13,97)	0,11
Urinsyre (µg/mL)	1,15(0,33-1,98)	0,01
CRP (mg/L)	-2,55(-24,98-19,88)	0,81
Adiponektin (µg/mL)	16,24(-10,59-43,08)	0,21
Von Willebrand faktor (AU)	-0,19(-1,36-0,98)	0,73
ICAM (ng/mL)	0,65(-1,06-2,35)	0,42

\*GFR beregnet ved hjelp av MDRD-ligningen [79].

Analysene med AUC reaktiv hyperemi viste lignende tendenser som tabellen for AUC<sub>ACH</sub>, denne tabellen er vedlagt i appendiks.

Den eneste signifikante assosiasjonen var mellom urinsyre og mikrovaskulær funksjon (LDF  $AUC_{ACh}$ ). Urinsyre viste en positiv assosiasjon med økt  $AUC_{ACh}$  (AU\*min) per enhet 1,15(0,33-1,98) ( $p = 0,01$ ).

Av blodmarkører ble det ikke vist noen signifikant assosiasjon med mikrovaskulær funksjon (LDF  $AUC_{ACh}$ ).

### **3.1.3 Endo-PAT (mikrovaskulær funksjon)**

Endo-PAT ble undersøkt på 47 pasienter. Samme faktorer som i tabell 3.15 ble testet, men det var ingen signifikante funn. Tabellen er vedlagt i appendiks.

# 4 Diskusjon

## 4.1 Del I – Urinsyre

Som hoveddel i denne studien ble urinsyres assosiasjon mellom biokjemiske markører, karstivhet og mikrovaskulær endotelfunksjon undersøkt. For karstivhet- og endoteltestene var det kun signifikant assosiasjon mellom urinsyre og endotelspesifikk mikrosirkulasjon (LDF AUC<sub>ACh</sub>). Urinsyre var i tillegg signifikant positivt assosiert med pulstrykk, dialysetid, NO, TG, vWf og ICAM-1 og negativt assosiert eGFR og HDL-kolesterol.

### *Vaskulær og mikrovaskulær funksjon:*

Den signifikante positive assosiasjonen som ble funnet i denne oppgaven var mellom urinsyre og endotelspesifikk mikrovaskulær funksjon (LDF AUC<sub>ACh</sub>). Dette medfører en bedre endotelfunksjon ved høyere konsentrasjoner av urinsyre. Dette ser ikke ut til å støtte hypotesen at urinsyre kan bidra til progresjon av nyresvikt hos nyresyke ved økt endoteldysfunksjon [52]. Dette kan være et tilfeldig funn, da testgruppen for mikrosirkulasjon (LDF AUC<sub>ACh</sub>) var på kun 14 pasienter. En testperson som hadde høye urinsyrenivåer og hadde også en kraftig respons på endoteltesten. Eksperimentelle dyrestudier har vist at urinsyre stimulerer proinflammatoriske tilstander ved vaskulær glatt muskelcelledeling ved produksjon av kjemotaktiske faktorer og oksidanter, samtidig som urinsyre aktiverer ”renin-angiotensin systemet” (RAS) [27]. Urinsyre er en potent antioksidant ekstracellulært som er gunstig for blodårene, samtidig virker urinsyre som en pro-oksidant intracellulært hvor det kan indusere stimulering av oksidaser ved mitokondriell dysfunksjon [27]. Det trengs flere studier som undersøker om urinsyre kan assosieres med endoteldysfunksjon også hos mennesker.

### *Demografiske data, glukosemetabolisme og nyrefunksjon:*

Ved stivere arterier og nedsatt endotelfunksjon vil ratio systolisk blodtrykk (SBP) og diastolisk blodtrykk (DBP) øke, det vil si at pulstrykket øker. Karstivhet er en viktig medvirkende faktor for progresjon av aterosklerose og arteriosklerose. I denne oppgaven økte pulstrykket med økte konsentrasjoner av urinsyre. Denne assosiasjonen holdt seg relevant for både ujusterte og justerte analyser. Derimot ble ikke urinsyre assosiert med karstivhetsmålingen SphygmoCor (PWV), noe som hadde vært forventet. Det er tidligere sett

en sammenheng mellom økt urinsyre og økt karstivhet målt med SphygmoCor (PWV), hvor 982 friske subjekter gjennomgikk en helsesjekk [80]. Selv etter justering for alder, kolesterol, triglyserider, røyk, BMI, systolisk blodtrykk og fastende glukose som er klassiske kardiovaskulære risikofaktorer, hold resultatet seg gjeldende [80]. En signifikant assosiasjon mellom urinsyre og dialysetid for både ujusterte og justerte analyser ble observert i denne oppgaven. Pasienter i dialyse får en ytterligere belastning på blodårene som gjør dem stivere. Urinsyre er signifikant assosiert med eGFR for både ujusterte og justerte analyse. Denne assosiasjonen viser at nyrefunksjonen målt ved eGFR går ned med økt urinsyre. K. Numakura et al. publiserte i 2012 en studie som undersøkte hyperurikemi et år etter transplantasjon. De observerte at pretransplantasjonsdialyse var en forutsigende faktor for hyperurikemi et år etter transplantasjon. Det ble også rapportert lavere eGFR hos pasienter med høyere nivåer av urinsyre etter transplantasjon [81], dette stemmer overens med funn i denne oppgaven.

#### ***Biokjemiske markører:***

Eksperimentelle studier har vist at urinsyre induserer oksidativt stress ved å virke som en pro-oxidant intracellulært som medfører mitokondriell dysfunksjon ved å stimulere NADPH oksidaser [82]. Det er også vist at urinsyre kan aktivere renin-angiotensin systemet (RAS), nedsette biotilgjengelighet av NO og stimulere proliferasjon av glatte muskelceller [27].

Dette leder til en proinflammatorisk tilstand i endotel som øker ekspresjon av proinflammatoriske cytokiner som igjen øker ekspresjon av VCAM-1 og ICAM-1. Urinsyre er også koblet til en økt hepatisk produksjon av CRP. Dette er viktig i den aterosklerotiske prosessen, hypertensjon og progresjon av nyresvikt [27]. CRP ble ikke assosiert med urinsyre i denne studien, det ble derimot andre inflammatoriske faktorer.

Urinsyre viser en negativ signifikant assosiasjon med HDL-kolesterol ved ujusterte analyser. Ved justering av analysene er ikke denne assosiasjonen lenger signifikant. HDL motvirker endoteldysfunksjon og inflammasjon ved revers transport av kolesterol, slik at aterosklerose prosessen begrenses [65].

Urinsyre var også signifikant positivt assosiert med anti-inflammatoriske markøren NO i både justerte og ujusterte analyser. Denne assosiasjonen er ikke rapportert i tidligere funn, og er et funn som ikke understøttes av eksperimentelle studier. Funnet fra dyreeksperimentelle studier viser at økte urinsyrenivåer hemmer syntesen av NO [10]. Denne observasjonen

gjelder også andre veien, og det er observert høyere NO ved medikamentell behandling som senker urinsyre nivåene [83].

ICAM-1 er i denne oppgaven assosiert med urinsyre ved ujusterte analyser, selv om denne assosiasjon ikke er signifikant. Ved å justere analysene med alder, kjønn, BMI og eGFR ble det en signifikant positiv assosiasjon mellom urinsyre og ICAM-1. Ved symptomatisk og asymptomatisk stenose er det vist at ICAM-1 er en god markør for sykdomsprogresjon i halsarteriene [52].

Urinsyre er signifikant positivt assosiert med vWf ved ujusterte og justerte analyser. Studier gjennomført på 16 menn med podagra observerte en sammenheng mellom økte konsentrasjoner av vWf og podagra. I denne studien ble det også funnet en sammenheng mellom høyere konsentrasjoner av urinsyre i blod og aktivering av vaskulært endotel som er medvirkende ved utvikling av aterosklerose [84].

TG og urinsyres assosiasjon er signifikant ved ujusterte analyser. Dette er en sammenheng sett i dyreforsøk. En assosiasjon mellom TG og BMI er også sett i en studie av 957 friske menn. Disse dataene kan tyde på at hyperurikemi kan assosieres med flere faktorer involvert ved insulinresistens [85]. Dette stemmer overens med resultatene i denne oppgaven. BMI er svakt assosiert med urinsyre ved ujusterte analyser, men denne assosiasjonen er ikke signifikant. Assosiasjonen frafaller helt ved justerte analyser. Dette kan være grunnet justeringer for BMI.

I denne studien har økte nivåer av urinsyre vist en assosiasjon med økte konsentrasjoner av de proinflammatoriske markørene ICAM-1, vWf og TG. Det ble ikke funnet en assosiasjon med akutfaseproteinet CRP, slik som det er meldt om i flere andre studier [29]. Av antiinflammatoriske markører var det kun HDL-kolesterol som gikk ned ved økte urinsyrenivåer. Urinsyre ble positivt assosiert med den antiaterosklerotiske markøren NO, som innebærer at økte urinsyrenivåer ble assosiert med høyere konsentrasjoner av NO. Det ble ikke vist noen assosiasjon med adiponektin som motvirker aterosklerotiske prosesser. Urinsyre ble positivt assosiert med endotelspesifikk vasodilatasjon, men dette er nok et tilfeldig funn grunnet lite materiale. Urinsyre ble ikke assosiert med generell endotelfunksjon eller karstivhet.

## 4.2 Del II – Vaskulær og mikrovaskulær funksjon

I denne studien ble assosiasjon mellom vaskulær og mikrovaskulære tester undersøkt, og deres assosiasjon med biokjemiske markører relevant for inflammatoriske responser i blodårer. Studien viste ingen signifikante assosiasjoner mellom testene av mikro- og makrovaskulær seg i mellom. Det ble vist en relevant assosiasjon mellom karstivhet (PWV) og dialysetid, alder, diabetes og IGT. Det ble ikke vist noen sammenheng mellom mikrosirkulasjon (LDF og Endo-PAT) og biokjemiske markører.

### *Vaskulær funksjon (karstivhet):*

Karstivhet ble undersøkt ved bruk av SphygmoCor, som måler arteriell stivhet ved hjelp av et tonometer og EKG-synkronisering. Dette er en mye brukt ikke-invasiv målemetode med lite variasjon knyttet til observatør. Nåværende studier indikerer at arteriell karstivhet er en alvorlig uavhengig risikofaktor for kardiovaskulær sykdom og død i både normalbefolkningen og hos nyresyke [86]. Faktorer som vaskulær kalsifisering gjør at nyresyke pasienter er ekstra utsatt for utvikling av stive blodårer. Dialysetid viser i følge analysene en signifikant assosiasjon med karstivhet. Lengre tid i dialyse gjør årene stivere grunnet blant annet påkjenninger som overskuddsvæske, kalsifisering av blodårer og høyt blodtrykk [47]. Dette er i samsvar med tidligere funn fra studie av karstivhet hos pasienter i PD og HD. Karotid-femoral karstivhet ble målt i 35 PD pasienter og 26 HD pasienter. Pasienter som gjennomgikk en av disse to typene dialyse hadde signifikant stivere blodårer sammenlignet med teoretisk normalverdi for karstivhet (PWV) [87].

Karstivhet viser en assosiasjon med økende alder som er signifikant, dette er en observasjon som det ofte rapporteres om i studier av nyresyke. Denne assosiasjonen har også blitt sett hos friske personer, hvor 2196 subjekter ble undersøkt [88]. Dette stemmer overens med patofysiologien til karstivhet. Ved økt alder og påvirkning av andre faktorer som for eksempel høyt blodtrykk som er vanlig hos nyresyke, gjennomgår åreveggene en endring av elastiske egenskaper. Dette begynner prosessen for arteriosklerose som karakteriseres av stivere blodårer, eller redusert arteriell elastisitet [47].

Studier har vist at karstivhet (PWV) korrelerer med total kalsifisering av åreveggen, selv etter korrigering for alder og dialysetid hos nyresyke [71]. Dette støtter opp mot teorien at

nyresyke blant annet har høyere nivåer av kalsiumnedslag som bidrar til stivere blodårer [47]. Dette er med å forklare denne pasientgruppens økte risiko for kardiovaskulær sykdom og død, som er rapportert i flere studier [89]. CORD studien som ble publisert i 2011 undersøkte prognostisk verdi av karstivhet og kalsifisering av blodårer hos nyresyke. 1084 pasienter i dialyse fra 47 ulike dialysesenter i Europa ble rekruttert. Karstivhet ble målt med SphygmoCor. Etter en oppfølging på to år ble 234 dødsfall registrert grunnet kardiovaskulære hendelser. Av ikke dødelige kardiovaskulære hendelser ble 91 tilfeller rapportert. Resultatene fra studien viste at karstivhet var en uavhengig markør for kardiovaskulær sykdom og død [71].

Det er observert at økte nivåer av blodglukose er positivt og uavhengig korrelert med karstivhet (PWV) hos diabetikere og IGT sammenlignet med subjekter med normoglykemi. En studie publisert i 2012 undersøkte 1043 subjekter, hvor 683 hadde normoglykemi og 360 hadde IGT. Resultatene viste at karstivhet var høyere i gruppen med IGT enn i gruppen med normoglykemi. Karstivhet var også positivt assosiert med fastende blodglukose [90]. Dette stemmer overens med resultatene i denne oppgaven hvor det også ble vist en positiv assosiasjon mellom karstivhet og diabetes og IGT. Tidligere studier har vist at glukose intoleranse medfører strukturelle og funksjonelle endringer i åreveggen [91].

Karstivhet ble ikke assosiert med endotelfunksjon i små blodkar. Det er tidligere publisert en studie som fant en signifikant korrelasjon mellom karstivhet målt ved ultralyd og endotelfunksjon målt ved laser-Doppler flowmetri [92].

### ***Mikrovaskulær funksjon:***

Laser-Doppler viste en positiv signifikant assosiasjon med urinsyre, ved bedre endotelfunksjon var nivåene av urinsyre høyere. Dette er diskutert under hoveddel som et tilfeldig funn.

Endo-PAT (mikrosirkulasjon) viste ingen signifikante assosiasjoner. Dette er en relativt ny metode for å undersøke mikrosirkulasjonen, og det finnes så langt ikke noe publisert materiale som sammenligner Endo-PAT med andre endoteltester for mikrosirkulasjon.

Endo-PAT og reaktiv hyperemi målt ved laser-Doppler gir begge et mål på generell endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen. Ved korrelasjonsanalyse av disse ble det ikke vist noen



signifikant assosiasjon. Det er ikke publisert materiale som indikerer at disse endoteltestene kan brukes om hverandre, selv om begge måler endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen..

Fordelene med Endo-PAT er at det er en mindre teknisk krevende målemetode en laser-Doppler flowmetri. M. Moerland et al. undersøkte endringer i endotelfunksjon ved bruk av Endo-PAT i ulike populasjoner, blant annet hos nyresyke pasienter. Studien observerte at Endo-PAT ikke klarte vise forskjell i endotelfunksjon i nyresyk populasjon med kjent diabetes og vaskulære sykdommer, sammenlignet med friske frivillige [93]. Laser-Doppler flowmetri har ved flere studier i nyretransplanterte vist å kunne detektere endret endotelfunksjon [94-96]. Laser-Doppler Flowmetri ved iontoforetisk administrasjon av ACh gir et mål på endotelets evne til å frigjøre NO, altså endotelspesifikk vasodilatasjon. Ved bruk av PORH, som det gjøres ved Endo-PAT og LDF reaktiv hyperemi, vil det skje en mer kompleks reaksjon i endotelet som skyldes flere faktorer enn NO.

# 5 Konklusjon

## *Del I Hoveddel – Urinsyre:*

Det var motstridende observasjoner angående urinsyres assosiasjon med endotelfunksjon. Urinsyre var ikke assosiert med karstivhet. Urinsyre var positivt assosiert med de inflammatoriske markørene TG, ICAM-1 og vWf, og negativt assosiert med den anti-inflammatoriske markøren HDL-kolesterol.

## *Del II – Vaskulær og mikrovaskulær funksjon:*

Karstivhet var ikke assosiert med de to testene for endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen. Undersøkelsene for endotelfunksjon i mikrosirkulasjonen var ikke assosiert med hverandre. Karstivhet var assosiert med dialysetid, alder, IGT og diabetes. Mikrosirkulasjonstestene Endo-PAT og laser-Doppler var ikke assosiert med noen demografiske eller biokjemiske markører.

# Litteraturliste

1. Foley, R.N., P.S. Parfrey, and M.J. Sarnak, *Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease*. Am J Kidney Dis, 1998. **32**(5 Suppl 3): p. S112-9.
2. Hartmann. A, J.T., Julsrud, J., *Nyremedisin - en praktisk veileder*, in *Nyremedisin - en praktisk veileder*. 2008, Gyldendal Akademisk: Oslo.
3. *Norsk nyremedisinsk forening. Annual report 2011. The Norwegian Renal Registry*. 2011 [cited 2013 17.04]; Available from: <http://www.nephro.no/nnr/AARSM2011.pdf>.
4. Gijsen, V.M., et al., *Tacrolimus-induced nephrotoxicity and genetic variability: a review*. Ann Transplant, 2012. **17**(2): p. 111-21.
5. Gjersvik, P., Helsing, P., Holdaas, H., Bergan, S., *Immunsuppressive legemidler og utvikling av hudkreft etter organtransplantasjon*. 2012.
6. Boratynska, M., A. Karbowska, and M. Klinger, *The effect of hyperuricemia on endothelial biomarkers and renal function in kidney allograft recipients*. Transplant Proc, 2010. **42**(10): p. 4074-7.
7. Hjelmesaeth, J., et al., *Glucose intolerance after renal transplantation depends upon prednisolone dose and recipient age*. Transplantation, 1997. **64**(7): p. 979-83.
8. Jalal, D.I., et al., *Uric acid as a target of therapy in CKD*. Am J Kidney Dis, 2013. **61**(1): p. 134-46.
9. Feig, D.I., D.H. Kang, and R.J. Johnson, *Uric acid and cardiovascular risk*. N Engl J Med, 2008. **359**(17): p. 1811-21.
10. Mazzali, M., et al., *Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism*. Hypertension, 2001. **38**(5): p. 1101-6.
11. Soletsky, B. and D.I. Feig, *Uric acid reduction rectifies prehypertension in obese adolescents*. Hypertension, 2012. **60**(5): p. 1148-56.
12. Talbott, J.H. and K.L. Terplan, *The kidney in gout*. Medicine (Baltimore), 1960. **39**: p. 405-67.
13. Moe, O.W., *Kidney stones: pathophysiology and medical management*. Lancet, 2006. **367**(9507): p. 333-44.
14. Ozkan, G., et al., *Treatment of tumor lysis syndrome with the highest known uric acid level*. Ren Fail, 2010. **32**(7): p. 895-8.
15. Yu, T.F. and L. Berger, *Impaired renal function gout: its association with hypertensive vascular disease and intrinsic renal disease*. Am J Med, 1982. **72**(1): p. 95-100.
16. Rosenfeld, J.B., *Effect of long-term allopurinol administration on serial GFR in normotensive and hypertensive hyperuricemic subjects*. Adv Exp Med Biol, 1974. **41**: p. 581-96.
17. Mazzali, M., et al., *Hyperuricemia induces a primary renal arteriopathy in rats by a blood pressure-independent mechanism*. Am J Physiol Renal Physiol, 2002. **282**(6): p. F991-7.
18. Kang, D.H., et al., *A role for uric acid in the progression of renal disease*. J Am Soc Nephrol, 2002. **13**(12): p. 2888-97.
19. Nakagawa, T., et al., *A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome*. Am J Physiol Renal Physiol, 2006. **290**(3): p. F625-31.

20. Becker, M.A., Schumacher, H. R., Romain, P. L. *Uric acid balance*. 2012 [cited 2013 08.05]; Available from: <http://www.uptodate.com/contents/uric-acid-balance?source=preview&anchor=H2&selectedTitle=1~150 - H2>.
21. Wu, X.W., et al., *Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution*. *J Mol Evol*, 1992. **34**(1): p. 78-84.
22. Levinson, D.J. and L.B. Sorensen, *Renal handling of uric acid in normal and gouty subject: evidence for a 4-component system*. *Ann Rheum Dis*, 1980. **39**(2): p. 173-9.
23. Lipkowitz, M.S., *Regulation of uric acid excretion by the kidney*. *Curr Rheumatol Rep*, 2012. **14**(2): p. 179-88.
24. Obermayr, R.P., et al., *Elevated uric acid increases the risk for kidney disease*. *J Am Soc Nephrol*, 2008. **19**(12): p. 2407-13.
25. Høieggen, A., Kjeldsen, S.E., *Urinsyre - verre enn vi trodde?* 2005.
26. Widerøe, T.E., *Kaptein Vom - haddde han bare podagra?* 2010.
27. Johnson, R.J., et al., *Uric acid and chronic kidney disease: which is chasing which?* *Nephrol Dial Transplant*, 2013.
28. Welch, W.J., C.S. Wilcox, and S.C. Thomson, *Nitric oxide and tubuloglomerular feedback*. *Semin Nephrol*, 1999. **19**(3): p. 251-62.
29. Kanellis, J. and D.H. Kang, *Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease*. *Semin Nephrol*, 2005. **25**(1): p. 39-42.
30. Iseki, K., et al., *Significance of hyperuricemia as a risk factor for developing ESRD in a screened cohort*. *Am J Kidney Dis*, 2004. **44**(4): p. 642-50.
31. Wang, S., et al., *Uric acid and incident chronic kidney disease in a large health check-up population in Taiwan*. *Nephrology (Carlton)*, 2011. **16**(8): p. 767-76.
32. Rich, M.W., *Uric acid: is it a risk factor for cardiovascular disease?* *Am J Cardiol*, 2000. **85**(8): p. 1018-21.
33. Kanbay, M., et al., *The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease*. *Heart*, 2013.
34. Zoccali, C., et al., *Uric acid and endothelial dysfunction in essential hypertension*. *J Am Soc Nephrol*, 2006. **17**(5): p. 1466-71.
35. *Dialyse*. 2006 [cited 2013 21.04]; Available from: <http://nhi.no/sykdommer/nyrer-urinveier/diverse/dialyse-22143.html>.
36. Tang, Z., et al., *Serum uric acid and endothelial dysfunction in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients*. *Am J Nephrol*, 2009. **29**(5): p. 368-73.
37. Kanbay, M., et al., *Arterial stiffness in dialysis patients: where are we now?* *Int Urol Nephrol*, 2010. **42**(3): p. 741-52.
38. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. *Nature*, 2002. **420**(6917): p. 868-74.
39. Næss, O., *Sykdommer i arterier og vener*, in *Sykdomslære og patologisk anatomi*. 2006, Forlaget Vett og Viten AS.
40. Nilsson, J., *[Atherosclerosis--the molecular background]*. *Lakartidningen*, 1991. **88**(3): p. 127-9.
41. Recio-Mayoral, A., et al., *Endothelial dysfunction, inflammation and atherosclerosis in chronic kidney disease--a cross-sectional study of predialysis, dialysis and kidney-transplantation patients*. *Atherosclerosis*, 2011. **216**(2): p. 446-51.
42. Behrendt, D. and P. Ganz, *Endothelial function. From vascular biology to clinical applications*. *Am J Cardiol*, 2002. **90**(10C): p. 40L-48L.
43. Mahe, G., et al., *Impact of Experimental Conditions on Noncontact Laser Recordings in Microvascular Studies*. *Microcirculation*, 2012. **19**(8): p. 669-675.

44. Endemann, D.H. and E.L. Schiffrin, *Endothelial dysfunction*. J Am Soc Nephrol, 2004. **15**(8): p. 1983-92.
45. Ejaz, A.A., et al., *Could uric acid have a role in acute renal failure?* Clin J Am Soc Nephrol, 2007. **2**(1): p. 16-21.
46. Stiefel, P., et al., *Which parameter is better to define endothelial dysfunction in a test of postocclusive hyperemia measured by laser-Doppler flowmetry?* Coron Artery Dis, 2012. **23**(1): p. 57-61.
47. Covic, A., P. Gusbeth-Tatomir, and D.J. Goldsmith, *Arterial stiffness in renal patients: an update*. Am J Kidney Dis, 2005. **45**(6): p. 965-77.
48. Reikvam, Å., Madsen, S., *Glykoprotein IIb/IIIa-antagonister som trombosehemmere*. 2002.
49. Blann, A.D., et al., *Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease*. Thromb Res, 2000. **97**(4): p. 209-16.
50. G, W.v.L., et al., *Atherosclerotic plaque biomarkers: beyond the horizon of the vulnerable plaque*. Curr Cardiol Rev, 2011. **7**(1): p. 22-7.
51. Thelle, D.S., Arnesen, E., *CRP-nivå som risikomarkør for hjerte- og karsykdom?* 2010.
52. Kang, D.H., et al., *Uric acid-induced C-reactive protein expression: implication on cell proliferation and nitric oxide production of human vascular cells*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16**(12): p. 3553-62.
53. Lawson, C. and S. Wolf, *ICAM-1 signaling in endothelial cells*. Pharmacol Rep, 2009. **61**(1): p. 22-32.
54. Braun, M., et al., *Cellular adhesion molecules on vascular smooth muscle cells*. Cardiovasc Res, 1999. **41**(2): p. 395-401.
55. Hollun, K., Reseland, J. E., Ranheim, T., Haugen, F., Drevon, C. A. , *Fettvevets betydning for utvikling av fedme og diabetes mellitus type 2*. 2003.
56. Arita, Y., et al., *Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity*. Biochem Biophys Res Commun, 1999. **257**(1): p. 79-83.
57. Ouchi, N., et al., *Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin*. Circulation, 1999. **100**(25): p. 2473-6.
58. Ouchi, N., et al., *Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages*. Circulation, 2001. **103**(8): p. 1057-63.
59. Jeppesen, J., et al., *Relation of high TG-low HDL cholesterol and LDL cholesterol to the incidence of ischemic heart disease. An 8-year follow-up in the Copenhagen Male Study*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997. **17**(6): p. 1114-20.
60. Hexeberg, S., Retterstøl, K., *Hypertriglyseridemi – diagnostikk, risiko og behandling*. 2004.
61. *Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease: the Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) study*. Circulation, 2000. **102**(1): p. 21-7.
62. Rubins, H.B., et al., *Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol*. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. N Engl J Med, 1999. **341**(6): p. 410-8.
63. Manninen, V., et al., *Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment*. Circulation, 1992. **85**(1): p. 37-45.

64. Wang, M. and M.R. Briggs, *HDL: the metabolism, function, and therapeutic importance*. Chem Rev, 2004. **104**(1): p. 119-37.
65. Hersberger, M. and A. von Eckardstein, *Low high-density lipoprotein cholesterol: physiological background, clinical importance and drug treatment*. Drugs, 2003. **63**(18): p. 1907-45.
66. Shah, P.K., et al., *Exploiting the vascular protective effects of high-density lipoprotein and its apolipoproteins: an idea whose time for testing is coming, part I*. Circulation, 2001. **104**(19): p. 2376-83.
67. Turner, J., J.J. Belch, and F. Khan, *Current concepts in assessment of microvascular endothelial function using laser Doppler imaging and iontophoresis*. Trends Cardiovasc Med, 2008. **18**(4): p. 109-16.
68. Flammer, A.J., et al., *The assessment of endothelial function: from research into clinical practice*. Circulation, 2012. **126**(6): p. 753-67.
69. Asmar, R., et al., *Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies*. Hypertension, 1995. **26**(3): p. 485-90.
70. Cameron, J.D. and J.K. Cruickshank, *Glucose, insulin, diabetes and mechanisms of arterial dysfunction*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007. **34**(7): p. 677-82.
71. Verbeke, F., et al., *Prognostic value of aortic stiffness and calcification for cardiovascular events and mortality in dialysis patients: outcome of the calcification outcome in renal disease (CORD) study*. Clin J Am Soc Nephrol, 2011. **6**(1): p. 153-9.
72. Tomiyama, H. and A. Yamashina, [*Pulse wave velocity*]. Rinsho Byori, 2004. **52**(8): p. 669-75.
73. Blacher, J., et al., *Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease*. Hypertension, 2001. **38**(4): p. 938-42.
74. Cracowski, J.L., et al., *Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans*. Trends Pharmacol Sci, 2006. **27**(9): p. 503-8.
75. Holowatz, L.A., et al., *Mechanisms of acetylcholine-mediated vasodilatation in young and aged human skin*. J Physiol, 2005. **563**(Pt 3): p. 965-73.
76. Axtell, A.L., F.A. Gomari, and J.P. Cooke, *Assessing endothelial vasodilator function with the Endo-PAT 2000*. J Vis Exp, 2010(44).
77. Vik, K., *Effekter på insulinsekresjon og endotelfunksjon av Januvia (DPP-IV hemmer) hos diabetiske nyretransplanterte pasienter*. 2010.
78. Alberti, K.G. and P.Z. Zimmet, *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation*. Diabet Med, 1998. **15**(7): p. 539-53.
79. Levey, A.S., et al., *Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate*. Ann Intern Med, 2006. **145**(4): p. 247-54.
80. Ishizaka, N., et al., *Higher serum uric acid is associated with increased arterial stiffness in Japanese individuals*. Atherosclerosis, 2007. **192**(1): p. 131-7.
81. Numakura, K., et al., *Hyperuricemia at 1 year after renal transplantation, its prevalence, associated factors, and graft survival*. Transplantation, 2012. **94**(2): p. 145-51.

82. Sanchez-Lozada, L.G., et al., *Uric Acid-induced endothelial dysfunction is associated with mitochondrial alterations and decreased intracellular ATP concentrations.* Nephron Exp Nephrol, 2012. **121**(3-4): p. e71-8.
83. Khosla, U.M., et al., *Hyperuricemia induces endothelial dysfunction.* Kidney Int, 2005. **67**(5): p. 1739-42.
84. Lapkina, N.A., et al., *[Markers of vascular endothelium activation in gout].* Ter Arkh, 2005. **77**(5): p. 62-5.
85. Bonora, E., et al., *Relationship of uric acid concentration to cardiovascular risk factors in young men. Role of obesity and central fat distribution. The Verona Young Men Atherosclerosis Risk Factors Study.* Int J Obes Relat Metab Disord, 1996. **20**(11): p. 975-80.
86. Weiner, D.E., et al., *Uric acid and incident kidney disease in the community.* J Am Soc Nephrol, 2008. **19**(6): p. 1204-11.
87. Strozecki, P., et al., *Comparison of arterial stiffness in endstage renal disease patients treated with peritoneal dialysis or hemodialysis.* Pol Arch Med Wewn, 2012. **122**(1-2): p. 33-9.
88. Vermeersch, S.J., et al., *Age and gender related patterns in carotid-femoral PWV and carotid and femoral stiffness in a large healthy, middle-aged population.* J Hypertens, 2008. **26**(7): p. 1411-9.
89. Laurent, S., et al., *Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients.* Hypertension, 2001. **37**(5): p. 1236-41.
90. Paik, J.K., et al., *Increased arterial stiffness in subjects with impaired fasting glucose.* J Diabetes Complications, 2013. **27**(3): p. 224-8.
91. Lukich, E., et al., *Increasing derangement of glucose homeostasis is associated with increased arterial stiffness in patients with diabetes, impaired fasting glucose and normal controls.* Diabetes Metab Res Rev, 2010. **26**(5): p. 365-70.
92. Debbabi, H., et al., *Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation.* Am J Hypertens, 2010. **23**(5): p. 541-6.
93. Moerland, M., et al., *Evaluation of the endoPAT as a tool to assess endothelial function.* International journal of vascular medicine, 2012. **2012**.
94. Åsberg, A., et al., *Atorvastatin improves endothelial function in renal - transplant recipients.* Nephrology Dialysis Transplantation, 2001. **16**(9): p. 1920-1924.
95. Voytovich, M.H., et al., *Short-term treatment with rosiglitazone improves glucose tolerance, insulin sensitivity and endothelial function in renal transplant recipients.* Nephrology Dialysis Transplantation, 2005. **20**(2): p. 413-418.
96. Åsberg, A., et al., *Better microvascular function on long - term treatment with lisinopril than with nifedipine in renal transplant recipients.* Nephrology Dialysis Transplantation, 2001. **16**(7): p. 1465-1470.





# Appendiks

**Tabell:** Legemiddelbruk frem til 10-ukers kontroll, oppgitt i antall (%):

Takrolimus	74 (93,7)
CyA	4 (5,1)
Everolimus	1 (1,3)
Mykofenolat	75 (94,9)
Trimetoprim + sulfonamid	74 (93,7)
Prednisolon	76 (96,2)
Protonpumpehemmer	74 (93,7)
Betablokker	29 (36,7)
Alfablokker	2 (2,5)
Alfa- og betablokker	12 (15,2)
ACE-hemmer	2 (2,5)
Kalsiumkanalblokker	38 (48,1)
Angiotensin II-reseptorantagonist	6 (7,6)
Loop-diuretika	17 (21,5)
Insulin	13 (16,5)
Tromboseprofylaktikum	45 (57)

Legemidler brukt av kun to eller færre pasienter ble ikke tatt med i tabellen. En pasient i gruppen loop-diuretika tar kun etter behov.

**Tabell:** Glukosebelastning gjennomført hos 65 pasienter, oppgitt i median (range).

Blodglukose 0 timer (mmol/l)	5,4 (3,8-8,9)
Blodglukose 2 timer etter glukosebelastning (mmol/l)	6,3 (3,3-14)

**Tabell:** Vasoaktiv respons for endotelfunksjonsmålingene, oppgitt i median (range).

<b>SphygmoCor:</b>	
PWV (m/s)	9,70 (6,1-24,8)
<b>Endo-PAT :</b>	
lnRHI	0,86(-0,2-1,5)
<b>Laser Doppler Flowmetry:</b>	
AUC ACh (AU*min)	139,96 (12,4-620,2)
Peak ACh (AU)	39,4 (4,3-577)
AUC Rh (AU*min)	21,89 (8,8-49,7)
Peak Rh (AU)	66,4 (25,2-96,1)

**Tabell:** Faktorer assosiert med peak ACh, oppgitt i ujustert med beta (95 % konfidensintervall) og p-verdi.

	<b>Ujustert</b>	
	<b>Beta (95% CI)</b>	<b>p-verdi</b>
Alder	2,25 (-3,93-8,43)	0,44
Kjønn (mann)	-64,96 (-256,12-126,19)	0,47
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-29,47 (-60,44-1,50)	0,06
Systolisk blodtrykk (mmHg)	3,15 (-4,82-11,11)	0,40
Diastolisk blodtrykk (mmHg)	12,22 (-1,54-25,98)	0,08
Diabetes	-52,83 (-321,31-215,64)	0,67
Glukose ved 2 timer (mmol/L)	54,44 (2,55-106,33)	0,04
Dialysetid (måneder)	1,94 (-4,35-8,21)	0,51
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	-1,54 (-7,45-4,40)	0,58
NO (µM)	-0,33 (-7,77-7,10)	0,92
Kreatinin (µmol/L)	-0,06 (-2,36-2,23)	0,95
Kolesterol (mmol/L)	20,37 (-83,76-124,50)	0,68
HDL (mmol/L)	180,32 (-46,75-407,39)	0,11
LDL (mmol/L)	-6,86 (-120,44-106,73)	0,90
Triglyserider (mmol/L)	-26,34 (-177,03-124,35)	0,71
mCRP (µg/L)	188,39 (79,66-297,11)	0,00
Adiponektin (µg/mL)	2,92 (-21,45-27,29)	0,80
Von Willebrand faktor (AU)	0,12 (-0,88-1,11)	0,80
ICAM (ng/mL)	-0,20 (-1,68-1,28)	0,78

**Tabell:** Faktorer assosiert med AUC RH (AU\*min), oppgitt i ujustert med beta (95 % konfidensintervall) og p-verdi.

	Ujustert	
	Beta (95% CI)	p-verdi
Alder	0,10(-0,43-0,62)	0,70
Kjønn (mann)	-16,76(-28,56- -4,95)	0,01
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,07(-3,10-2,96)	0,96
Systolisk blodtrykk (mmHg)	0,18(-0,49-0,85)	0,57
Diastolisk blodtrykk (mmHg)	0,32(-0,99-1,62)	0,60
Diabetes	-16,23(-35,88-3,42)	0,10
Glukose ved 2 timer (mmol/L)	2,66(-1,74-7,05)	0,21
Dialysetid (måneder)	0,00(-0,53-0,53)	0,99
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0,18(-0,66-0,30)	0,43
NO (µM)	0,30(-0,28-0,89)	0,28
Kreatinin (µmol/L)	-0,04(-0,23-0,15)	0,65
Kolesterol (mmol/L)	3,02(-5,44-11,48)	0,45
HDL (mmol/L)	17,28(-0,60-35,16)	0,06
LDL (mmol/L)	-0,52(-9,92-8,89)	0,91
Triglyserider (mmol/L)	4,43(-7,78-16,64)	0,44
mCRP (µg/L)	2,58(-11,03-16,18)	0,69
Adiponektin (µg/mL)	0,10(-1,92-2,13)	0,91
Von Willebrand faktor (AU)	-0,04(-0,12-0,04)	0,28
ICAM (ng/mL)	-0,02(-0,14-0,11)	0,78

**Tabell:** Faktorer assosiert med mikrovaskulær funksjon (Endo-PAT), oppgitt i ujustert med beta (95 % konfidensintervall) og p-verdi.

	Ujustert	
	Beta (95% CI)	p-verdi
Alder	0,00 (-0,01-0,01)	0,49
Kjønn (mann)	-0,12 (-0,36-0,13)	0,34
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,02 (-0,05-0,01)	0,20
Systolisk blodtrykk (mmHg)	0,00 (-0,00-0,01)	0,26
Diastolisk blodtrykk (mmHg)	0,01 (-0,01-0,02)	0,32
Diabetes	-0,22 (-0,52-0,09)	0,17
Glukose ved 2 timer (mmol/L)	-0,01 (-0,06-0,03)	0,60
Dialysetid (måned)	0,00 (-0,01-0,01)	0,60
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	0,00 (-0,01-0,01)	0,76
NO (µM)	-0,00 (-0,01-0,01)	0,49
Kreatinin (µmol/L)	-0,00 (-0,01-0,00)	0,31
Kolesterol (mmol/L)	-0,02 (-0,10-0,07)	0,67
HDL (mmol/L)	0,09 (-0,17-0,35)	0,50
LDL (mmol/L)	-0,02 (-0,12-0,08)	0,66
Triglyserider (mmol/L)	-0,06 (-0,19-0,07)	0,39
mCRP (µg/L)	0,03 (-0,21-0,27)	0,83
Adiponektin (µg/L?)	0,01 (-0,02-0,04)	0,36
Von Willebrand faktor (AU)	0,00 (-0,00-0,00)	0,67
ICAM (ng/mL)	0,00 (-0,00-0,00)	0,57