

DISFUNȚIA ENDOTELIALĂ VASCULARĂ EVALUATĂ PRIN ECOGRAFIE DOPPLER VASCULAR: O COMPARAȚIE ÎNTRE PACIENȚII CU CIROZĂ HEPATICĂ ȘI UN LOT MARTOR

VASCULAR ENDOTHELIAL DYSFUNCTION ASSESSED BY DOPPLER TECHNIQUES: A COMPARISON BETWEEN PATIENTS WITH HEPATIC CIRRHOSIS AND A HEALTHY CONTROL GROUP

Dragoș Lupu^{1,2}, Emilia Gabriela Condrea¹, Laurențiu Nedelcu¹

Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania, Brașov

² Spitalul Sf. Constantin Brașov

Autor corespondent: Emilia Gabriela Condrea, email: emilia.condrea@unitbv.ro

Abstract:

Aim: The aim of the study was to evaluate endothelial dysfunction in systemic vascular territory in a group of patients with cirrhosis divided into subgroups according to etiology and ARPI score, compared with a control group.

Method: We conducted a study including 78 patients with cirrhosis in which endothelial function at rest and at effort was determined using an accurate parameter in estimating endothelial dysfunction- single passive limb movement - sPLM.

Results: At rest, after comparing the main two groups, no statistically significant differences were noted, yet in the comparison of the cirrhotic patients subgroup with ethanoic etiology and the control group, a significant statistically difference was observed.

Conclusions: The hypothesis that patients with cirrhosis are showing increased NO-mediated systemic vasodilatation was confirmed in our study, only after performing a vasodilating maneuver such as single passive limb movement. Interestingly, additional vasodilating effects was observed at rest, especially after sPLM in the subgroup of patients with ethanolic cirrhosis, but also in the subgroup with APRI score less than 1 at rest and over 1.5 after sPLM by mechanisms that require a better understanding.

Rezumat:

Scop: Scopul studiului a fost evaluarea funcției endoteliale în teritoriul vascular sistemic la un grup de pacienți cu ciroză hepatică împărțiți în subgrupuri în funcție de etiologie și scorul APRI comparativ cu un lot martor.

Metodă: A fost efectuat un studiu pe 78 de pacienți cu ciroza hepatica la care s-a făcut determinarea funcției endoteliale la repaus și la efort utilizând un parametru dovedit a fi precis ca și estimare a funcției endotelului – mișcarea pasivă a unui membru inferior (single passive limb movement - sPLM).

Rezultate: La repaus, după compararea celor două grupuri principale, nu au fost remarcate diferențe semnificative statistic, dar la compararea subgrupului de pacienți cirolici etanolici cu grupul de control, a fost observată o diferență semnificativă statistic.

Concluzii: Ipoteza că pacienții cu ciroză hepatică manifestă o vasodilație sistemică crescută NO-mediată a fost confirmată în studiul nostru, însă doar după o manevră vasodilatatoare ca mișcarea pasivă a unui membru inferior. În mod interesant un efect suplimentar vasodilatator a fost observat și la repaus, mai ales după sPLM la subgrupul de pacienți cu ciroză hepatică etanolică dar și la subgrupul cu scor APRI mai mic de 1 la repaus și peste 1.5 după sPLM, prin mecanisme ce necesită o mai bună înțelegere.

Keywords: *endothelial dysfunction, hepatic cirrhosis, vascular echography, passive limb movement (sPLM).*

Cuvinte cheie: *disfuncție endotelială, ciroză hepatică, ecografie vasculară, mișcarea pasivă a unui membru (sPLM)*

Introducere

Ciroza hepatică este o patologie însoțită de o vasodilație sistemică și splahnică produse de diferiți mediatori. Un rol principal îl are oxidul

nitric (NO), o substanță vasodilatatoare eliberată de endoteliu (Gifford JR, 2017), (Zytoon AA, 2014). Un accent important a fost pus în ultimii ani pe consecințele clinice ale alterării funcției normale a endoteliului. Studiile precedente au concluzionat că există o scădere a producției de oxid nitric în endoteliului vascular hepatic precum și o creștere a producției de oxid nitric la nivelul vaselor sistemice (Yasuko I, 2007, Broxterman RM, 2017, Gifford JR, 2017).

Numeroase studii precedente au folosit ca parametru pentru estimarea funcției endoteliale dilatația mediata de flux (FMD), un parametru tradițional cu limite în evaluarea precisă a vasodilatației NO-mediate.

În această lucrare estimarea funcției endoteliale a fost făcută utilizând un parametru mai precis și anume mișcarea pasivă a unui membru inferior (sPLM), parametru considerat a fi mai exact decât alți parametri în estimarea funcției endoteliale. (Ryan M, 2017, Trinity JD, 2012, Venturelli M, 2017).

Au fost evaluați 78 de pacienți cu ciroza hepatică de diferite grade și etiologii, precum și diferite scoruri APRI. Ca și lot martor am inclus 45 de pacienți fără nici o patologie cunoscută. În ambele grupuri am estimat funcția endotelială folosind mișcarea pasivă a unui membru inferior (sPLM) măsurată cu ajutorul doppler-ului vascular.

Comparațiile au fost făcute între cele două grupuri principale dar și între subgrupurile formate în funcție de etiologii și scorurile APRI.

Material și metodă

În primul grup au fost incluși 78 de pacienți cu vârste cuprinse între 44 și 75 de ani cu diagnosticul de ciroză hepatică. 70% au fost bărbați și 30% femei.

În conformitate cu scorul Child-Pugh: 26 pacienți (33,33%) erau încadrați în clasa A, 38 pacienți (48,17%) în clasa B și 14 pacienți (17,97%) în clasa C. (fig. 1).

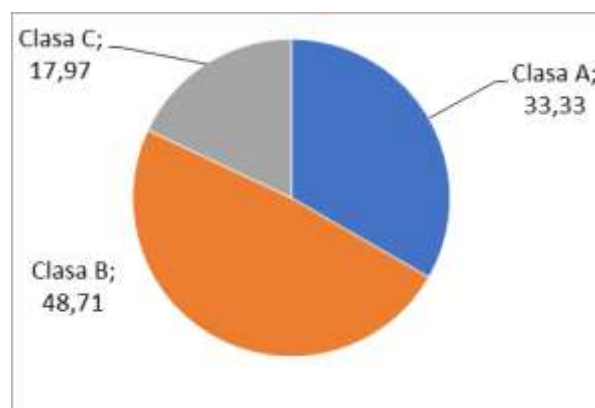


Figura 1 – Frecvența pacienților în funcție de scorul Child Pugh

Scorul APRI (Indice TGP raportat la trombocite) a fost de asemenea calculat și 60 de pacienți (76%) au avut o valoare mai mare decât 1,49 pacienți (62%) mai mare decât 1,5 iar 18 pacienți (24%) sub 1. Valoarea normală a TGP a fost stabilită la 40 IU/L conform recomandărilor experților. (Lai M, 2019).

În ceea ce privește etiologia au fost 50 (64,10%) pacienți cu ciroza hepatică toxică, 25 (33,90%) pacienți cu ciroza hepatică post-virală și 3 pacienți (2,00%) cu altă etiologie. (fig.2).

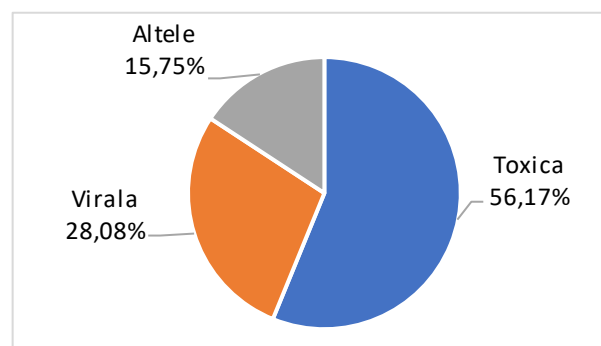


Figura 2 – Frecvența pacienților în funcție de etiologie

Am folosit următorul protocol: pacienții au fost așezați în decubit dorsal, am poziționat un transductor liniar cu o frecvență între 3.5-10 MHz (General Electric Vivid S6), la nivelul arterei femurale comune în timp ce un asistent a executat extensii pasive ale gambei pe coapsă timp de 3 minute. Fluxul sanguin la nivelul membrului (LBF) și conductanța vasculară la nivelul membrului (LVC) (calculată ca și LBF împărțit la presiunea arterială medie), au fost măsurate în ml/min, respectiv ml/min x mmHg, folosind parametri Doppler. Presiunea arterială medie a fost calculată utilizând formula: PAM =

PD + 1/3(PS – PD) (PD= presiunea diastolică; PS = presiunea sistolică).

În grupul cu pacienți cirofici au fost 75% pacienți cu tratament cu beta blocante non selective. În grupul de control pacienții nu au avut nici o medicație. Toți pacienții care luau medicație au fost sfătuiți să întrerupă tratamentul, să nu fumeze și să nu bea alcool pentru cel puțin 24 de ore înainte precum și să nu mănânce cu șase ore înainte de determinarea parametrilor. (Limberg JK, 2020).

De asemenea pacienții cu patologie arterială la nivelul membrelor inferioare au fost excluși din studiu.

Analiza statistică a fost făcută utilizând Calculatorul Mann-Whitney U Test. Comparațiile au fost făcute între cele două grupuri principale, apoi între subgrupuri - ca și etiologie (etanolic, viral, alte etiologii) și ca și scor APRI (sub 1, 1-1.5, peste 1), iar în cele din urmă între subgrupuri și grupul de control.

Rezultate

În repaus

a) În grupul pacienților cu ciroză hepatică fluxul sanguin la nivelul membrului inferior (LBF) a fost 235 +/- 90 ml/min cu mici diferențe în funcție de diferitele etiologii.

O medie de 240 ml/min în subgrupul etanolic, 220 ml/min în subgrupul cu ciroză post-virală și 220 ml/min în subgrupul cirozelor de alte etiologii. În grupul de control LBF a fost 210 +/-70 ml/min și LVC a fost 2.1 +/- 0.5 ml/min/mmHg. La compararea celor două grupuri principale nu s-a constatat o diferență semnificativă statistic (p>0.01), la fel și în cazul comparării subgrupurilor de ciroză post-virală și ciroză de alte etiologii cu grupul de control (p>0.01). La compararea subgrupului etanolic cu grupul de control diferențele s-au dovedit a fi semnificative statistic p<0.01.

De asemenea la compararea subgrupului etanolic cu subgrupul viral nu s-a constatat nicio diferență semnificativa statistic (p>0.01). Nici o comparație nu a fost efectuată cu subgrupul de pacienții cu ciroză de altă etiologie datorită numărului redus de pacienți din această categorie.

În ceea ce privește subgrupurile în funcție de scorul APRI: la pacienții cu scor APRI sub 1, valoarea medie LBF a fost 240 ml/min, la cei cu

scor APRI între 1 și 1,5 a fost 235 ml/min și la pacienții cu scor APRI peste 1.5, LBF a fost 230 ml/min (Tabelul 1).

	APRI <1	APRI 1-1.5	APRI >1.5
Repaus	LBF (ml/min): 240	235	230
s	LVC(ml/min/mmHg): 2.2	2.2	2.3
Dupa 3 min de SPLM	LBF (ml/min): 1150	1100	1400
	LVC(ml/min/mmHg): 12	11.6	14

Tabelul 1 – Rezultatele în funcție de scorul APRI

Singura diferență semnificativă statistică a fost remarcată la compararea lotului martor cu subgrupul de pacienți cu scor APRI sub 1 (p<0.01).

La compararea celor trei subgrupuri de scor APRI nu a fost remarcată nicio diferență semnificativă statistic (p>0.01).

b) Conductanța vasculară la nivelul membrului inferior (LVC) a fost 2,2 ml/min/mmHg în grupul cirofic și 2,1 ml/min/mmHg în grupul de control. (p>0.01).

În subgrupul etanolic LVC mediu a fost 2.3 ml/min/mmHg, în cel viral 2.1 ml/min/Hg și 2.1 ml/min/Hg în subgrupul de alte etiologii.

Datorită numărului redus de pacienți din subgrupul de altă etiologie nu s-au efectuat comparații cu acest subgrup. La comparația LVC etanolic și LVC viral valoarea p a fost >0.01. La comparația LVC etanolic cu grupul de control valoarea p a atins semnificație statistică (p <0.01).

În subgrupurile realizate în funcție de scorul APRI valorile LVC au fost între 2.2 ml/min/mmHg și 2.3 mm/min/mmHg cu un p>0.01 la toate comparațiile realizate.

După 3 minute de mișcare pasivă a membrelor inferioare

În tot grupul cirofic LBF a fost 1290 +/- 213 ml/min cu o creștere suplimentară în subgrupul pacienților cu ciroză hepatică etanolică (1350 +/- 145 ml/min) (Tabelul 2).

Etiologie	În repaus	După 3 minute de sPLM
Etanolic	LBF: 240 ml/min LVC: 2.3 ml/min/mmHg	LBF: 1350 ml/min LVC: 14 ml/min/mmHg
Viral	LBF: 220 ml/min LVC :2.1 ml/min/mmHg	LBF: 1250 ml/min LVC :13 ml/min/mmHg
Alte etiologii	LBF: 220 ml/min LVC: 2.1 ml/min/mmHg	LBF: 1330 ml/min LVC: 14 ml/min/mmHg
Tot grupul	LBF: 235 ml/min LVC: 2.2 ml/min/mmHg	LBF: 1290 ml/min LVC: 13 ml/min

Tabelul 2 – Rezultatele în funcție de diversele etiologii

În grupul de control valorile LBF au fost 987 +/- 100 și valorile LVC au fost 10 +/- 3. (Tabelul 3).

Semnificația statistică a fost realizată și la compararea grupului principal cu grupul control precum și la compararea tuturor subgrupurilor de pacienții cirofici cu grupul de control ($p < 0.001$).

La efectuarea comparațiilor între diferitele etiologii nu au fost obținute diferențe semnificative statistic.

La subgrupurile de pacienți în funcție de scorul APRI valoarea medie LBF a fost 1150 ml/min la cei cu scor APRI sub 1, 1100 ml/min la cei cu scor APRI între 1 și 1,5 și 1400 ml/min la cei cu scor APRI > 1.5 .

Pacienții cu scorul APRI peste 1.5 au avut valori mai mari ale LBF comparativ cu grupul de control și de asemenea la comparația cu cei cu scor APRI sub 1.5 ($p < 0.01$).

b) LVC a fost 14 ml/min/mmHg în grupul cirotic comparativ cu 10 ml/min/mmHg în grupul de control ($p < 0.01$). În subgrupurile în funcție de etiologie valorile LVC au oscilat între 13-14 ml/min/mmHg fără a reprezenta o diferență semnificativă statistică între grupuri ($p > 0.01$).

În ceea ce privește subgrupurile în funcție de scorul APRI: la cei cu APRI sub 1 valorile medii ale LVC au fost 12 ml/min/Hg, 11.6 la cei cu APRI 1-1.5 și 14 la cei cu APRI > 1.5 . La comparația între cele trei subcategorii, cei cu scor APRI peste 1.5 au manifestat cea mai mare vasodilatație, rezultat semnificativ statistic ($p < 0.01$). De asemenea cei cu scor APRI peste 1.5 au fost singura subcategorie care a

determinat o diferență semnificativă statistic comparativ cu lotul martor ($p < 0.01$) (Tabelul 3).

	Repaus	După 3 minute de sPLM
Grupul de control	LBF: 210 ml/min LVC: 2.1 ml/min/mmHg	LBF: 987 ml/min LVC: 10 ml/min/mmHg

Tabelul 3 – Rezultatele în grupul de control

Discuții

În repaus

În studiile existente în literatura de specialitate s-a concluzionat faptul că ciroza hepatică induce o vasoconstricție în endoteliului intra-hepatic și o vasodilatație NO-mediată în endoteliului vaselor sistemic inclusiv la nivelul membrelor inferioare (Zytoon AA, 2014, Shields KL, 2019, Colak Y, 2013).

În condiții de repaus, la compararea celor două grupuri principale nu s-au remarcat diferențe semnificative statistic însă o diferență interesantă, semnificativă din punct de vedere statistic a fost observată atunci când s-a comparat subgrupul pacienților cu ciroza hepatică etanolică cu lotul martor. Aceste rezultate au fost similare în cazul ambilor parametri utilizați (LBF și LVC).

În articolele precedente au fost mai multe dispute legate de efectul consumului cronic de alcool asupra endoteliului și asupra producerii oxidului nitric (NO). S-a presupus că etanolul inhibă sinteza oxidului nitric prin diferite mecanisme incluzând inhibiția NO sintetazei. (Paul A. C, 2001, Deng XS, 2007, Vairappan B, 2015, Iwakiri Y, 2011, Iwakiri Y, 2006, Hennenberg M, 2008).

În mod interesant în studiul nostru, la repaus singura diferență semnificativă statistic a fost observată la compararea subgrupului de pacienții cu ciroză hepatică de etiologie etanolică cu lotul martor. Pe de altă parte, un lucru de menționat ar fi că acești pacienți nu mai erau nici unul băutori activi, astfel că nu există o explicație clară pentru acest rezultat.

De asemenea pacienții cu scor ARPI < 1 au manifestat mai multă vasodilatație la repaus comparativ cu lotul martor. Această descoperire ar putea fi parțial explicată de un stres oxidativ mai redus în acest subgrup cu mai puțină fibroză existentă.

După trei minute de sPLM

Comparația directă între cele două grupuri principale s-a dovedit a fi semnificativă statistic, confirmând ipoteza că pacienții cu ciroză hepatică manifestă vasodilatație sistemică crescută indusă prin oxidul nitric în contrast cu disfuncția endotelială la nivelul vaselor porto-hepatice, manifestată prin vasoconstricție. În studiul nostru ambii parametri folosiți au fost concordanți. (Colle I, 2008, Wiest R, 1999, Aller MA, 2005, Gracia-Sancho J, 2008).

Mecanismul implicat este descris în literatură și implică creșterea secrețiilor de molecule vasoactive cum ar fi adrenomedulina, factorul de creștere endotelial vascular, monoxidul de carbon, factorul de necroză tumorală alfa, prostaciclina (PGI₂). În cazul nostru stresorul fizic folosit – mișcarea pasivă a unui membru inferior (sPLM) a condus la o creștere a producției oxidului nitric având ca efect direct o vasodilatație mai mare decât a pacienților din lotul martor.

Cea mai mare creștere a vasodilatației a fost remarcată în subgrupul etanolic.

În ceea ce privește subgrupurile în funcție de scorul APRI, doar cei din subgrupul cu APRI peste 1.5 au manifestat o creștere semnificativă statistic a parametrilor de vasodilatație măsurați. Este de menționat faptul că 62 la sută din totalul numărului de pacienți erau în această categorie.

Ca și limitări ale studiului menționăm numărul total de pacienți relativ redus precum și numărul redus de pacienți din subcategoria pacienților cu ciroză hepatică non alcoolică și non virală ceea ce a împiedicat o comparație la acești pacienți.

Concluzii

Studiul a pus în evidență faptul că ciroza hepatică manifestă vasodilatație sistemică mediată de oxidul nitric după efectuarea unei manevre care crește producția de oxid nitric și anume sPLM, iar vasodilatația suplimentară este manifestată și la repaus dar și la efort, la pacienții din subgrupul cu ciroză hepatică etanolică. De asemenea, s-a găsit o vasodilatație crescută la pacienții cu scor APRI sub 1 la repaus și la cei cu APRI peste 1.5 la efort prin mecanisme ce necesită o mai bună înțelegere.

Bibliografie

- [1] Aller MA, Vara E, Garcia C, Palma MD, Arias JL, Nava MP, Arias J. Proinflammatory liver and antiinflammatory intestinal mediators involved in portal hypertensive rats. *Mediators Inflamm.* 2005 Jun 9; 2005(2):101-11. doi: 10.1155/MI.2005.101. PMID: 16030393; PMCID: PMC1533904.
- [2] Broxterman RM, Trinity JD, Gifford JR, et al. Single passive leg movement assessment of vascular function: contribution of nitric oxide. *J Appl Physiol* (1985). 2017; 123(6): 1468-1476. doi:10.1152/jappphysiol.00533.2017.
- [3] Colak Y, Senates E, Yesil A, Yilmaz Y, Ozturk O, Doganay L, Coskunpinar E, Kahraman OT, Mesci B, Ulasoglu C, Tuncer I. Assessment of endothelial function in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrine.* 2013 Feb; 43(1):100-7. doi: 10.1007/s12020-012-9712-1. Epub 2012 Jun 3. PMID: 22661277.
- [4] Colle I, Geerts AM, Van Steenkiste C, Van Vlierberghe H. Hemodynamic changes in splanchnic blood vessels in portal hypertension. *Anat Rec (Hoboken).* 2008 Jun; 291(6):699-713. doi: 10.1002/ar.20667. PMID: 18484617.
- [5] Deng XS, Deitrich RA. Ethanol metabolism and effects: nitric oxide and its interaction. *Curr Clin Pharmacol.* 2007;2(2):145-153. doi:10.2174/157488407780598135.
- [6] Gifford JR, Richardson RS. CORP: Ultrasound assessment of vascular function with the passive leg movement technique. *J Appl Physiol* (1985). 2017 Dec 1; 123(6): 1708-1720. doi:10.1152/jappphysiol.00557. 2017. Epub 2017 Sep 7. PMID: 28883048; PMCID: PMC5814681.
- [7] Gracia-Sancho J, LavinaB, Rodriguez-Vilarrupla A, et al. Increased oxidative stress in cirrhotic rat livers: a potential mechanism contributing to reduced nitric oxide bioavailability. *Hepatology* 2008; 47: 1248–56.
- [8] Hennenberg M, Trebicka J, Sauerbruch T, Heller J. Mechanisms of extrahepatic vasodilation in portal hypertension. *Gut.* 2008 Sep; 57(9):1300-14. doi: 10.1136/gut.2007.144584. Epub 2008 Apr 29. PMID: 18445644.
- [9] Iwakiri Y, Groszmann RJ. The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule. *Hepatology.* 2006 Feb; 43(2 Suppl 1):S121-31. doi: 10.1002/hep.20993. PMID:

- 16447289.
- [10] Iwakiri Y, Groszmann RJ. Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis. *J of Hepatol* 2007; 46: 927–34. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02579>.
- [11] Lai M, Afdhal NH. Liver Fibrosis Determination. *Gastroenterol Clin North Am*. 2019 Jun; 48(2): 281-289. doi: 10.1016/j.gtc.2019.02.002. Epub 2019 Apr 1. PMID: 31046975.
- [12] Limberg JK, Casey DP, Trinity JD, et al. Assessment of resistance vessel function in human skeletal muscle: guidelines for experimental design, Doppler ultrasound, and pharmacology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020; 318(2): H301-H325. doi:10.1152/ajpheart.00649.2019.
- [13] Cahill PA, Redmond EM, Sitzmann JV, Endothelial dysfunction in cirrhosis and portal hypertension. *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 89, Issue 3, 2001, pg. 273-293, ISSN 0163-7258.
- [14] Broxterman RM, Trinity JD, Gifford JR, Kwon OS, Kithas AC, Hydren JR, Nelson AD, Morgan DE, Jessop JE, Bledsoe AD, Richardson RS. Single passive leg movement assessment of vascular function: contribution of nitric oxide. *Journal of Applied Physiology* 2017 123:6, 1468-1476.
- [15] Shields KL, Broxterman RM, Jarrett CL, Bisconti AV, Park SH, Richardson RS. The passive leg movement technique for assessing vascular function: defining the distribution of blood flow and the impact of occluding the lower leg. *Exp Physiol*. 2019; 104(10):1575-1584. doi:10.1113/EP087845.
- [16] Trinity JD, Groot HJ, Layec G, et al. Nitric oxide and passive limb movement: a new approach to assess vascular function. *J Physiol*. 2012; 590(6): 1413-1425. doi:10.1113/jphysiol.2011.224741.
- [17] Vairappan B. Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. *World J Hepatol*. 2015 Mar 27;7(3):443-59. doi: 10.4254/wjh.v7.i3.443. PMID: 25848469; PMCID: PMC4381168.
- [18] Venturelli M, Layec G, Trinity J, Hart CR, Broxterman RM, Richardson RS. Single passive leg movement-induced hyperemia: a simple vascular function assessment without a chronotropic response. *J Appl Physiol* (1985). 2017; 122(1): 28-37. doi:10.1152/jappphysiol.00806.2016.
- [19] Wiest R, Groszmann RJ. Nitric oxide and portal hypertension: its role in the regulation of intrahepatic and splanchnic vascular resistance. *Semin Liver Dis*. 1999; 19(4):411-26. doi: 10.1055/s-2007-1007129. PMID: 10643626.
- [20] Yasuko Iwakiri, Roberto J. Groszmann. Vascular endothelial dysfunction in cirrhosis Published: March 05, 2007 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.02.006>.
- [21] Zytoon AA, Allah AN, Faisal A. The prediction of liver disease status using Doppler observations of the hepatic and portal venous system compared with liver biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Research and Reports in Focused Ultrasound*. 2014;2:1-11 <https://doi.org/10.2147/RRFU.S57202>.

Contribuția autorilor: conceptualizare DL, EGC și LN; designul cercetării: DL, EGC și LN, validarea metodologiei: DL, EGC și LN; culegerea datelor: DL, EGC și LN, analiza datelor și / sau interpretarea datelor: DL, EGC și LN; scrierea-pregătirea textului inițial DL, EGC și LN, revizuire și editare: DL, EGC și LN

Surse de finanțare: niciuna

Conflicte de interese: autorii nu au conflicte de interese relevante pentru acest articol.

Mulțumiri: -