



**UNIVERZIT U NOVOM SAD
MEDICINSKI FAKULTET
KLINIČKA MEDICINA**

**UTICAJ RAZLIČITIH ANTITROMBOZNIH LEKOVA NA PREVENCIJU
NASTANKA RANE TROMBOZE ARTERIOVENSKIH FISTULA ZA
HEMODIJALIZU KOD BOLESNIKA SA TERMINALNOM BUBREŽNOM
INSUFICIJENCIJOM**

Doktorska disertacija

Mentor: prof. dr Gorana Mitić

Kandidat: mr. sci. med. dr Predrag Filipov

Novi Sad, 2017.

UNIVERZITET U NOVOM SADU – MEDICINSKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

| | |
|--|---|
| Redni broj: RBR | |
| Identifikacioni broj: IBR | |
| Tip dokumentacije: TD | Monografska dokumentacija |
| Tip zapisa: TZ | Tekstualni štampani materijal |
| Vrsta rada VR | Doktorska disertacija |
| Ime i prezime autora: AU | Predrag Filipov |
| Mentor MN | Prof. dr Gorana Mitić |
| Naslov rada: NR | Uticaj različitih antitromboznih lekova na prevenciju nastanka rane tromboze arteriovenskih fistula za hemodijalizu kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom |
| Jezik publikacije: JP | Srpski jezik (latinica) |
| Jezik izvoda: JI | Srpski / Engleski |
| Zemlja publikovanja: ZP | Republika Srbija |
| Uže geografsko područje: UGP | Vojvodina |
| Godina: GO | 2017. godina |
| Izdavač: IZ | Autorski reprint |
| Mesto i adresa: MA | Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Srbija |
| Fizički opis rada: FO | 16 poglavlja, 244 strane, 7 slika, 5 grafikona, 50 tabele, 1 šema, 415 referenci |
| Naučna oblast: NO | Medicina |
| Naučna disciplina: ND | Hematologija, hemostaza |
| Predmetna odrednica, ključne reči: PO | hronična bubrežna insuficijencija; arteriovenska fistula; tromboza; vaskularni pristup za dijalizu; antikoagulansi |

| | |
|-----------------------|---|
| UDK | 616.61-78-089.89-06 616.13/.14-007.253:615.273 |
| Čuva se: ČU | Biblioteka Medicinskog fakulteta u Novom sadu, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija |
| Važna napomena: VN | |
| Izvod: IZ | <p>UVOD: Komplikacije terminalne bubrežne isuficijencije (TBI) kada se jačina glomerularne filtracije (JGF) smanji ispod 10 mL/min moguće je lečiti jedino hroničnom dijalizom ili transplantacijom bubrega tj. nadoknadom potpuno ili delimično izgubljene bubrežne funkcije. Uz blagovremenu edukaciju bolesnika o progresivnom toku hronične bubrežne bolesti, mogućnostima dijaliznog tretmana i transplantacije bubrega, treba na vreme obezbediti stalni funkcionalni vaskularni pristup za hemodijalizu (HD) hirurškom intervencijom kreiranja arteriovenske fistule (AVF), po mogućnosti najmanje 6 meseci pre anticipiranog započinjanja HD, jer je za njenu maturaciju potrebno 4 do 6 nedelja.</p> <p>Primarna AVF je opštepreporučeni najbolji stalni vaskularni pristup za bolesnike kod kojih se planira hemodijaliza. Najčešći razlog za disfunkciju vaskularnog pristupa za hemodijalizu su u 80% slučajeva trombozne komplikacije, koje se u 90% slučajeva javljaju na venskom segmentu AVF i posledica su progresivne venske neointimalne hiperplazije. Pored histoloških karakteristika zida venskog krvnog suda i hemodinamskih uslova, u etiopatogenezi ovog »adaptivnog odgovora« vrlo značajnu ulogu igraju endotel i ostale komponente hemostaznog sistema (trombocitna, koagulaciona i fibrinolizna), imunološki i citološki činioci i genetski faktori. Prevencija nastanka rane tromboze vaskularnog pristupa za hemodijalizu kod bolesnika sa TBI je moguća primenom antitromboznih lekova, tj. antitrombocitne ili antikoagulantne terapije.</p> <p>CILJ: Proceniti efikasnost primenjenih antitromboznih lekova (tiklopidina i nadroparin-kalcijuma) u prevenciji nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti AVF za hemodijalizu za vreme njene maturacije unutar 6 nedelja od kreiranja u bolesnika sa TBI. Ispitati nivo biomarkera hemostaznog sistema i markere trombofilije u bolesnika sa TBI pre kreiranja AVF u cilju dopune uzroka nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti arteriovenskih fistula za hemodijalizu. Ispitati učestalost trombofilije i njen uticaj na funkcionalnost AVF i uporediti efikasnost primenjenih preventivnih režima između bolesnika sa i bez trombofilije.</p> <p>MATERIJAL I METODE: U ispitivanje su uključene osobe oba pola sa prethodno postavljenom dijagnozom TBI kod kojih nisu postojale kontraindikacije za planirno hirurško kreiranje prvog stalnog vaskularnog pristupa za hemodijalizu u vidu autologne arteriovenske fistule (AAVF). Nakon hirurškog kreiranja radiocefalične arteriovenske fisule u distalnoj trećini podlaktice nedominantne ruke (89/121), intermedijalne (4/121) ili proksimalne (28/121) AAVF u studiju je uključen 121 ispitanik, koji su u cilju procene uticaja različitih antitromboznih lekova na sprečavanje nastanka rane tromboze fistula za hemodijalizu kod bolesnika sa TBI ispitanici su podeljeni u 3 grupe: Grupa I, kontrolna; 40 ispitanika koji nakon kreiranja AVF nisu dobijali antitromboznu terapiju, Grupa II; 42 ispitanika kod kojih je dan nakon kreiranja AVF započeta primena antitrombocitnog leka iz grupe tienopiridina, Ticlodix® (ticlopidin) tbl a 250 mg, 2 x ½ tbl dnevno tokom 6 nedelja i Grupa III; 39 ispitanika kod kojih je dan nakon kreiranja AVF započeta subkutana primena antikoagulantnog leka</p> |

iz grupe niskomolekularnih heparina, Fraxiparine® (nadroparin-kalcijum) 2850 anti Xa i.j. (0.3 ml) dnevno tokom 6 nedelja. Jednokratno određivanje laboratorijskih parametara pokazatelja bubrežne funkcije, metabolizma glukoze i hroničnog zapaljenja, funkcionalnosti hemostaznog sistema, trombofilnih markera i genskog polimorfizma vršeno je unutar dve nedelje pre hirurškog kreiranja AAVF. Kriterijum za utvrđivanje ishoda uticaja antitrombozne terapije predstavlja maturacija AVF koja je definisana kao uspešna ako je započeto sprovođenje efikasne hemodijalize najranije 6 nedelja nakon njenog hirurškog kreiranja po proceni nadležnog nefrologa. Dijagnoza prisustva tromboze AVF postavljena je od strane nadležnog vaskularnog hirurga/nefrologa fizikalnim pregledom tokom njene maturacije, koji je podrazumevao inspekciju, palpatorno utvrđivanje odsustva karakterističnog trila i auskultatornih karakteristika protočnosti AVF ili ultrasonografskim pregledom od strane radiologa.

REZULTATI: Između ispitivanih grupa u odnosu na broj tromboziranih/ afunkcionalnih AVF tokom njene maturacije (12/40 vs. 4/42 vs. 5/39; $P=0.033$), ustanovljena je značajna statistička razlika kao i poređenjem broja tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi u odnosu na grupu ispitanika (objedinjene Grupe II i Grupa III) koja je primala antitromboznu profilaksu (12/40 vs. 9/81; $P=0.009$). Daljom analizom ispitivanih grupa, utvrđena je statistički značajna razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih AV fistula između kontrolne Grupe I i Grupe II ($P=0.019$). Testiranjem razlike u broju tromboziranih/ afunkcionalnih AVF između ispitanika kontrolne Grupe I i Grupe III nije dobijena statistički značajna razlika, kao ni između Grupe II i Grupe III. Zastupljenost broja tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF za vreme njihove maturacije (12/33 vs 2/31 vs. 3/24; $P=0.008$) se između ispitivanih grupa značajno statistički razlikovala kao i zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi u odnosu na grupu ispitanika koja je primala antitromboznu profilaksu (12/34 vs. 5/55; $P=0.002$). Testiranjem statističke razlike u broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF između ispitanika kontrolne Grupe I i Grupe II utvrđena je statistički značajna razlika ($P=0.005$), dok između Grupe I i Grupe III ($P=0.051$), kao ni između Grupe II i Grupe III ($P=0.439$) nije dobijena statistički značajna razlika.

Između podgrupa ispitanika kod kojih je došlo do tromboze/afunkcionalnosti AVF 21/121 (17.35%) i podgrupe ispitanika sa funkcionalno maturiranom AVF 90/121 (82.64%), značajna statistička razlika ispitanih hemostaznih parametara je bila prisutna u vrednostima agregabilnosti trombocita uz kolagen kao induktor (59.33 ± 33.1 vs. 75.04 ± 29.6 ; $P=0.033$). Značajna statistička razlika je zabeležena i u zastupljenosti sledećih trombofilnih markera: deficita PC (3/21 vs. 3/100; $P=0.030$), APC-R (4/21 vs. 5/100; $P=0.026$), prisustva antifosfolipidnih ACL IgM antitela (1/21 vs. 0/100; $P=0.028$), heterozigotnog polimorfizma FV G1691A (3/21 vs. 3/100; $P=0.03$) i homozigotne mutacije gena FII G20210A (1/21 vs. 0/100; $P=0.028$), između podgrupa bolesnika sa tromboziranom afunkcionalnom i funkcionalnom AVF. Takođe je značajna statistička razlika između podgrupa bolesnika kod kojih je došlo tromboze/afunkcionalnosti AVF i podgrupe ispitanika sa funkcionalno maturiranom AVF bila prisutna u odnosu na postojanje ranijih tromboza (23/21 vs 19/100; $P=0.000$) kao i zastupljenosti izolovanih venskih tromboza (9/21 vs. 2/100; $P=0.000$).

Prediktivni potencijal pojedinačnih parametara za maturaciju AVF ispitan je univarijantnom logističkom regresionom analizom. Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na maturaciju fistule, zapazili smo da su ispitanici koji su primali antitromboznu terapiju imali 3 puta veću šansu za funkcionalno maturiranu AVF [OR 3.45 (1.3-9.03)] u odnosu na bolesnike bez terapije. Ispitanici koji su imali prethodne tromboze su imali višestruko povišen rizik [OR 6.92 (2.51-19.06)] za nastanak tromboze/afunkcionalnost AVF tokom maturacije.

Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na rizik od pojave tromboze/afunkcionalnosti distalne AVF, zapažamo da primena antitrombozne terapije [OR 5.4 (CI 1.7 - 17.35)] petostruko snižava rizik za nastanak tromboze/ afunkcionalnosti distalne AVF, odnosno da primena antitrombozne terapije petostruko povećava šansu za adekvatnu maturaciju distalne AVF. Ispitanici koji su imali aterosklerotske KVB [OR 0.32 (0.1-0.98)] i ranije tromboze [OR 0.14 (0.04-0.44)] su imali za 68% i 86% manju verovatnoću za adekvatnu maturaciju distalne AVF (334).

Trombofilija je bila prisutna u 59/121 (48.8%) ispitanika. U odnosu na markere aktivacije koagulacione komponente hemostaznog sistema i inflamatorne pokazatelje, između podgrupa ispitanika sa ili bez trombofilije statistički značajna razlika je bila prisutna u vrednostima koncentracije FVIII (170.35±103.97 vs. 235.26±124.80; P=0.02) i odnosa trombociti/limfociti (181±64.58 vs. 148.11±66.15; P=0.026). U odnosu na lokalizaciju AVF, u podgrupi ispitanika sa trombofilijom i tromboziranom/ afunkcionalnom AVF, njih 8/11 su pripadale distalnim AVF, 3/11 proksimalnim AVF, dok je u podgrupi ispitanika bez trombofilije i tromboziranom/afunkcionalnom AVF, njih 9/10 imalo distalnu, a 1/10 proksimalnu AVF. U grupi bolesnika sa trombofilijom nije zabeleženo prisustvo statistički značajne razlike u efikasnosti primenjenih antitromboznih režima merene učestalošću tromboza/afunkcionalnosti AVF u odnosu na bolesnike sa trombofilijom koji nisu primali antitromboznu terapiju (5/19 vs. 2/18 vs. 4/22; P=0.493). U grupi ispitanika bez trombofilije utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u učestalosti tromboza/afunkcionalnosti AVF između grupe sa i bez primene antitromboznih lekova kako u ukupnom broju tromboziranih/afunkcionalnih AVF (7/21 vs. 2/24 vs. 1/17; P=0.030). Iako je zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti AVF u bolesnika sa kombinovanom trombofilijom češća u odnosu na ispitanike koji su imali drugu vrstu ili uopšte nisu imali trombofiliju (6/18 vs. 15/103; P=0.052), ona nije dostigla statistički značajnu vrednost.

ZAKLJUČAK: Profilaktička primena antitromboznih lekova (tiklopidina i nadroparin-kalcijuma) smanjuje učestalost pojave rane tromboze i pojavu primarne nefunkcionalnosti AVF za hemodijalizu tokom njene maturacije. Primena antitrombozne terapije petostruko snižava rizik za nastanak tromboze/ afunkcionalnosti distalne AVF tokom njene maturacije. Bolesnici koji su imali prethodne tromboze imaju višestruko povišen rizik za nastanak tromboze AVF tokom njene maturacije. Kod bolesnika koji su imali aterosklerotske KVB i ranije tromboze verovatnoća za adekvatnu maturaciju distalne AVF je niža za 68% , odnosno 86%. U našem istraživanju nije utvrđeno postojanje superiornosti antikoagulantne u odnosu na antitrombocitnu profilaksu tj. oba primenjena režima su bila podjednako efikasna. U terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji prisutan je značajan poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema koji se očituje u disfunkciji endotela i poremećenoj (sniženoj) funkcionalnosti trombocita, prisustvu prokoagulantnog stanja koje se manifestuje povišenom trombinskom aktivnošću, povišenom koncentracijom činilaca koagulacije i smanjenom fibrinoliznom aktivnošću. Češća zastupljenost ukupnih ranijih tromboza (arterijskih i venskih), češća zastupljenost izolovanih venskih tromboza i učestalije prisustvo trombofilije prezentovano deficitom PC, prisustvom rezistencije na APC, prisustvom antifosfolipidnih antikardiolipinskih antitela IgM, heterozigotnog polimorfizma FV G1691A, homozigotne mutacije FII G201210A i niža vrednost agregabilnosti trombocita uz kolagen kao induktor su markeri koji su u našem ispitivanju signifikantno češće zastupljeni kod ispitanika sa trombozom/ afunkcijom AVF za hemodijalizu tokom njenog sazrevanja. Trombofilija je prisutna kod 48.8% bolesnika saTBI, ali našim ispitivanjem nije utvrđen njen uticaj na nastanak rane tromboze/afunkcionalnosti AVF izuzev u grupi bolesnika sa kombinovanom trombofilijom. Mali broj krvarećih komplikacija u našoj studiji ukazuje na

| | |
|--|--|
| <p>bezbednost primenjenog preventivnog režima. Na osnovu dobijenih rezultata može se preporučiti profilaktička primena tiklopidina ili nadroparin-kalcijuma u preventivnim dozama kod bolesnika sa TBI neposredno nakon kreiranja AVF. Primenu profilakse tromboznih komplikacija kod bolesnika sa novokreiranom AVF preporučujemo posebno kod bolesnika koji su imali prethodne tromboze i/ili kliničke manifestacije aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti.</p> | |
| <p>Datum prihvatanja teme od strane Se nata: DP</p> | <p>21.10.2010.</p> |
| <p>Datum odbrane: DO</p> | |
| <p>Članovi komisije: KO</p> | <p>predsednik: član: član: član: član:</p> |

**UNIVERSITY OF NOVI SAD – FACULTY OF MEDECINE
KEY WORD DOCUMENTATION**

| | |
|--------------------------------|---|
| Accession number: ANO | |
| Identification number: INO | |
| Document type: DT | Monograph documentation |
| Type of record: TR | Textual printed material |
| Contents code: CC | PhD Thesis |
| Author: AU | Predrag Filipov |
| Mentor: MN | Gorana Mitić MD, PhD |
| Title: TI | The use of different antithrombotic drugs for the prevention of early thrombosis of arteriovenous fistula for hemodialysis in patients with end stage renal disease |
| Language of text: LT | Serbian/Latin |
| Language of abstract: LA | Serbian/English |
| Country of publication: CP | Republic of Serbia |
| Locality of publication: LP | Vojvodina |
| Publication year: PY | 2017 |
| Publisher: PU | Author's reprint |
| Publication place: PP | Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Republic of Serbia |
| Physical description: PD | Chapters 16, pages 244, pictures 7, graphs 5, tables 50, scheme 1 šema, references 415 |
| Scientific field SF | Medecine |
| Scientific discipline SD | Hematology, Hemostasis |
| Subject, Key words SKW | Renal Insufficiency, Chronic; Arteriovenous Fistula; Thrombosis; Vascular Access Devices; Anticoagulants |
| UC | 616.61-78-089.89-06 616.13/.14-007.253:615.273 |
| Holding data: | Library of Medical Faculty Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, |

| | |
|--|--------------------|
| HD | Republic of Serbia |
| Note: N | |
| <p data-bbox="248 302 358 359">Abstract: AB</p> <p data-bbox="248 405 1451 1052"> INTRODUCTION: Complications in end stage renal disease (ESRD) when the glomerular filtration rate (GFR) decreases below 10mL/min can only be treated by chronic dialysis or kidney transplant ie. total or partial renal replacement therapy. With prompt education of the patient regarding the progressive course of the chronic kidney disease, possibilities of dialysis treatment and kidney transplantation, the patient should timely be granted permanent functional vascular hemodialysis (HD) access through surgical intervention by creating arteriovenous fistula (AVF), preferably at least 6 months prior to the anticipated start of HD, as period for its maturation is between 4 and 6 weeks. Primary AVF is the generally best recommended permanent vascular access for patients planned for dialysis. The most common reason for dysfunction of the vascular access for hemodialysis are thrombotic complications in 80% of the cases, 90% of which appear in the venous segment of AVF as the consequence of progressive venous neointimal hyperplasia. Beside the histological characteristics of the venous blood vessel wall and hemodynamic conditions, in the etiopathogenesis of this “adaptive answer”, endothel and other components of the hemostatic system (platelet, coagulation and fibrinolysis), immunological and cytological components as well as genetic factors play a very important role. Prevention of occurrence of early thrombosis of vascular access for hemodialysis in patients with ESRD is possible by treatment with antithrombotic drugs, ie. antiplatelet or anticoagulant therapy. </p> <p data-bbox="248 1098 1451 1398"> OBJECTIVE: Estimate the efficiency of applied antithrombotic drugs (ticlopidine and nadroparin-calcium) in prevention of occurrence of early thrombosis/dysfunction of AVF for hemodialysis during its time of maturation within the 6 week period. Examine the level of biomarkers of the hemostatic system and thrombophilic markers in patients with ESRD before the creation of AVF with the goal of finding additional causes of occurrence of early thrombosis/dysfunction of arteriovenous fistula for hemodialysis. Determine the incidence of thrombophilia and its impact on the functionality of AVF and compare the efficiency of applied preventive regimen between patients with and without thrombophilia. </p> <p data-bbox="248 1476 1451 1892"> MATERIAL AND METHODS: The study included persons of both sexes with previously established diagnosis of ESRD in which there were no contraindications for the planned surgical creation of the first permanent vascular access for hemodialysis in the form of autologous arteriovenous fistula (AAVF). After the surgical creation of the radiocephalic arteriovenous fistula in the distal third of the forearm of the non-dominant hand (89/121), intermedial (4/121) or proximal (28/121) AAVF, the total number of 121 patients were included in the study and divided into three groups in order to estimate the influence of different antithrombotic drugs in prevention of early thrombosis for hemodialysis in patients with ESRD: Group I, control; 40 subjects which did not receive antithrombotic therapy after the creation of AVF, Group II; 42 subjects which started receiving an antithrombotic drug from the tienopiridine group, Ticlodix® (ticlopidine) 2 x ½ of 250mg tbl, daily, during the period of 6 weeks, after the creation of AVF, and Group III; 39 subjects which started </p> | |

subcutaneously receiving a drug from the low-molecular weight heparin group, Fraxiparine® (nadroparine-calcium) 2850 anti Xa i.j. (0.3 ml) daily, during the period of 6 weeks. One-time determination of laboratory parameters and renal function, glucose metabolism and chronic inflammation, hemostatic system functionality, thrombophilic markers and gene polymorphism was performed within two weeks prior to surgical creation of AAVF. The criteria for determining the outcome of the impact of antithrombotic therapy is the maturation of AVF, which is defined as successful if the implementation of effective hemodialysis started at least 6 weeks after its creation, where the effectiveness of hemodialysis is estimated by a competent nephrologist. The diagnosis of the presence of AVF thrombosis was set by a competent vascular surgeon/nephrologist through physical examination during its maturation, which included inspection, palpatory determination of absence of the characteristic thrill and auscultatory characteristics of the flow of AVF, or by ultrasonographic examination by the radiologist.

RESULTS: Between the groups in terms of number of thrombosed/dysfunctional AVF during its maturation (12/40 vs. 4/42 vs. 5/39, $P = 0.033$), a significant statistical difference was established, as well as by comparing the number of thrombosed/dysfunctional AVF during maturation in the control group compared to the group of respondents (unified Group II and Group III) which received antithrombotic prophylaxis (12/40 vs. 9/81, $P = 0.009$). Through further analysis of the examined groups, a statistically significant difference was observed in the number of thrombosed/dysfunctional AV fistula between the control Group I and Group II ($P = 0.019$). There was no statistically significant difference noticed in the numbers of thrombosed/dysfunctional AVF between the subjects in the control Group I and Group III, as well as between Group II and Group III. Presence of the number of thrombosed/dysfunctional distal AVF during their maturation (12/33 vs 2/31 vs. 3/24, $P = 0.008$) between the groups statistically significantly varied, as well as the presence of the number of thrombosed/dysfunctional distal AVF during the maturation in the control group as compared to the group of subjects who received antithrombotic prophylaxis (12/34 vs. 5/55; $P=0.002$). By testing statistical differences in the number of thrombosed/dysfunctional distal AVF between the subjects in the control Group I and Group II a statistically significant difference ($P = 0.005$) was established, while there was no statistically significant difference between Group I and Group III ($P = 0.051$), nor between Group II and Group III ($P = 0.439$).

Among the subgroup of patients with thrombosis/dysfunction of AVF 21/121 (17.35%) and the subgroup of subjects with functionally matured AVF 90/121 (82.64%), a statistically significant difference of the examined hemostasis parameters was present in the values of platelet aggregation with collagen as the inducer (59.33 ± 75.04 vs. 33.1 ± 29.6 ; $P = 0.033$). A significant statistical difference was recorded in the presence of the following thrombophilic markers: deficit of PC (3/21 vs. 3/100; $P = 0.030$), APC-R (4/21 vs. 5/100; $P = 0.026$), the presence of antiphospholipid ACL IgM antibodies (1/21 vs. 0/100; $P = 0.028$), heterozygous FV G1691A polymorphism (3/21 vs. 3/100; $P = 0.03$) and homozygous gene mutation FII G20210A (1/21 vs. 0/100; $P = 0.028$), between the subgroups of patients with thrombosed/dysfunctional and functional AVF. There also was a significant statistical difference between the groups of patients which encountered thrombosis/dysfunction of AVF and subgroups of subjects with functional matured AVF in relation to the existence of previous thrombosis (23/21 vs. 19/100; $P = 0.000$) and the presence of isolated venous thrombosis (9/21 vs. 2/100; $P = 0.000$).

Predictive potential of individual parameters for AVF maturation was tested by univariate logistic regression analysis. During the examination of the influence of individual parameters on fistula

maturation, we observed that subjects who received antithrombotic therapy were 3 times more likely to develop functionally matured AVF [OR 3.45 (1.3-9.03)] as compared to subjects who did not receive any treatment. Subjects which previously had thrombosis had a multiple times increased risk [OR 6.92 (2:51 to 19:06)] of developing thrombosis/dysfunctional AVF during its maturation. When examining the influence of individual parameters on the risk of thrombosis/dysfunction of the distal AVF, we noted that the implementation of antithrombotic therapy [OR 5.4 (CI 1.7 - 17:35)] reduced risk of thrombosis/dysfunction of the distal AVF by five times, ie. that the implementation of antithrombotic therapy increases the chance for adequate distal AVF maturation by five times. The subjects that had atherosclerotic cardiovascular diseases (CVD) [OR 0.32 (0.1-0.98)] or previous thrombosis [OR 0.14 (0.04-0.44)] had a 68% or 86% less chance for adequate distal AVF maturation (334).

Thrombophilia was present in 59/121 (48.8%) patients. In relation to the markers of activation of coagulation components of the hemostatic system and inflammatory markers, among subgroups of subjects with or without thrombophilia a statistically significant difference was present in the FVIII concentration (170.35 ± 103.97 vs. 235.26 ± 124.80 ; $P = 0.02$) and the platelets/lymphocytes ratio (181 ± 64.58 vs. 148.11 ± 66.15 ; $P = 0.026$). In relation to the localization of AVF, in the subgroup of subjects with thrombophilia and thrombosed/dysfunctional AVF, 8/11 of them belonged to distal AVF, 3/11 proximal AVF, while in the subgroup of subjects without thrombophilia and thrombosed/dysfunctional AVF, had 9/10 distal and 1/10 proximal AVF. In the group of subjects with thrombophilia there was no record of the presence of statistically significant differences in the efficiency of antithrombotic regimen which was measured by the frequency of thrombosis/dysfunction of AVF as compared to subjects with thrombophilia which did not receive antithrombotic therapy (5/19 vs. 2/18 vs. 4/22, $P = 0.493$). In the group of subjects without thrombophilia statistically significant differences were found in the frequency of thrombosis/dysfunctions of AVF among groups with and without the use of antithrombotic drugs in the total number of thrombosed/dysfunctional AVF (7/21 vs. 2/24 vs. 1/17, $P = 0.030$). Although the presence of thrombosis/dysfunction of AVF in patients with combined thrombophilia was more frequent compared to those who had other types of, or did not have thrombophilia (6/18 vs. 15/103; $P = 0.052$), it did not reach a statistically significant value.

CONCLUSION: Prophylactic use of antithrombotic drugs (ticlopidine and nadroparin-calcium) reduces the incidence of early thrombosis and the occurrence of primary AVF dysfunction for hemodialysis during its maturation. Implementation of antithrombotic therapy reduced risk of thrombosis/ dysfunction of the distal AVF during its maturation by five times. Patients who have had previous thrombosis have multiple times greater risk of AVF thrombosis during its maturation. In patients who had atherosclerotic CVD or previous thrombosis, the probability for adequate maturation of distal AVF is lower by 68% or 86%. In our study there was no evidence of superiority of anticoagulant compared to antiplatelet prophylaxis ie. both regimens were equally effective. In ESRD there is significant disarrangement of hemostatic system functionality, which is reflected in endothelial dysfunction and disturbed (reduced) platelet functionality, the presence of procoagulant condition that is manifested by elevated thrombin activity, increased levels of clotting factors and reduced fibrinolytic activity. More frequent presence of total previous thrombosis (arterial and venous), higher frequency of isolated venous thrombosis and frequent presence of thrombophilia presented by the deficit of PC, the presence of resistance to APC, presence of anticardiolipin antiphospholipid antibodies IgM, heterozygous FV G1691A polymorphism, homozygous mutation

FII G201210A and lower value of collagen induced platelet aggregation are the markers in our study which are significantly more frequent in patients with thrombosis/dysfunction of AVF for hemodialysis during its maturation. Thrombophilia is present in 48.8% of patients with ESRD, however our study does not determine its impact on early thrombosis/dysfunction of AVF except in the group of patients with combined thrombophilia. A small number of bleeding complications in our study points to the safety of the applied preventive regimen. Based on the obtained results, prophylactic use of ticlopidine or nadroparin-calcium in preventive doses can be recommended for patients with ESRD immediately after AVF creation. Prophylactic treatment of thrombotic complications in patients with newly created AVF is recommended especially in patients who have had previous thrombosis and/or clinical manifestations of atherosclerotic cardiovascular diseases.

| | |
|--------------------------------|--|
| Accepted on Senat on: AS | 21.10.2010. |
| Defended: DE | |
| Thesis Defend Board: DB | president: member: member: member: member: |

SADRŽAJ:

| | |
|--|----|
| UVOD | 1 |
| 1. FIZIOLOGIJA HEMOSTAZNOG SISTEMA | 3 |
| 2. HRONIČNA BOLEST BUBREGA. | 12 |
| 3. KARAKTERISTIKE POREMEĆAJA FUNKCIONALNOSTI HEMOSTAZNOG SISTEMA U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI | 17 |
| 4. ENDOTELU HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI | 21 |
| 4.1. Fiziologija endotela | 21 |
| 4.2. Endotelna disfunkcija u hroničnoj bubrežnoj bolesti | 27 |
| 4.2.1. Insulinska rezistencija | 28 |
| 4.2.2. Oksidativni stres | 30 |
| 4.2.3. Hronično sistemsko zapaljenje | 32 |
| 4.3. Oštećenje endotela uremijskim toksinima | 36 |
| 4.4. Hipertenzija i oštećenje endotela u HBB | 38 |
| 4.5. Dijabetes melitus tip 2, dijabetesna nefropatija i oštećenje endotela u HBB | 40 |
| 4.5.1. Hiperglikemija | 40 |
| 4.5.2. Dislipidemija | 42 |
| 4.5.3. Mikroalbuminurija | 46 |
| 5. TROMBOCITI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI | 49 |
| 6. KOAGULACIONI ČINIOCI I FIBRINOLIZNI SISTEM U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI | 56 |
| 7. TROMBOFILIJA U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI | 58 |

| | |
|---|----|
| 8. VASKULARNI PRISTUP U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ INSUFICIJENCIJI | 68 |
| 8.1. Autologna arteriovenska fistula (AAVF) | 69 |
| 8.2. Sazrevanje (maturacija) arteriovenske fistule | 71 |
| 8.3. Disfunkcija arteriovenske fistule | 74 |
| 9. PRIMENA ANTITROMBOZNIH LEKOVA U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ INSUFICIJENCIJI | 80 |
| 9.1. Antikoagulantni lekovi u HBI | 82 |
| 9.1.1. Vitamin K antagonisti (VKA) | 82 |
| 9.1.2. Parenteralni antikoagulansi | 85 |
| 9.1.2.1. Nefrakconisani heparin (unfractionated heparin - UFH) | 85 |
| 9.1.2.2. Heparini male molekulske težine (low molecular weight heparin - LMWH) | 85 |
| 9.1.2.3. Oligosaharidi - Fondaparinux | 87 |
| 9.2. Novi oralni antikoagulansi (NOAK) | 88 |
| 9.2.1. Direktni inhibitori trombina | 89 |
| 9.2.2. Direktni inhibitori FXa | 90 |
| 9.3. Fibrinolizna terapija | 91 |
| 9.4. Antitrombocitni lekovi | 91 |
| 9.4.1. Inhibitori ciklooksigenaze-1 (COX-1) | 92 |
| 9.4.2. Inhibitori ADP/ P2Y ₁₂ receptora (tienopiridini i nukleotidni analozi) | 92 |
| 9.4.3. Inhibitori GP IIb/IIIa receptora | 94 |
| 9.4.4. Inhibitori fosfodiesteraze | 95 |

| | |
|---|-----|
| 10. MEDIKAMENTOZNA PREVENCIJA TROMBOZE | |
| ARTERIOVENSKE FISTULE ZA HEMODIJALIZU | 97 |
| 11. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA | 100 |
| 12. MATERIJAL I METODE ISPITIVANJA | 102 |
| 12.1. Ispitanici, konstrukcija i način izbora uzorka | 102 |
| 12.2. Tok ispitivanja | 103 |
| 12.3. Metode | 104 |
| 12.4. Osnovne metode statističke obrade podataka | 115 |
| 13. REZULTATI..... | 117 |
| 13.1. Selekcija i opšte karakteristike ispitanika | 117 |
| 13.1.1. Demografski podaci bolesnika u ispitivanim grupama | 119 |
| 13.1.2. Klinički podaci ispitanika u ispitivanim grupama | 121 |
| 13.1.3. Klinički podaci o lekovima koji mogu uticati na sazrevanje AVF | 123 |
| 13.1.4. Klinički podaci ispitanika o ranijim tromboznim komplikacijama u ispitivanim grupama | 124 |
| 13.1.5. Pokazatelji prisustva trombofilnog stanja u ispitivanim grupama | 125 |
| 13.1.6. Biohemijski parametri bubrežne funkcije u ispitivanim grupama | 126 |
| 13.1.7. Parametri metabolizma glukoze i lipida u ispitivanim grupama | 127 |
| 13.1.8. Parametri inflamacije u ispitivanim grupama | 128 |
| 13.1.9. Osnovni hemostazni parametri u ispitivanim grupama | 129 |
| 13.1.10. Vrednosti činitelja koagulacije u ispitivanim grupama | 130 |

| | |
|---|-----|
| 13.1.11. Parametri endotelne i koagulacione aktivacije u ispitivanim grupama | 131 |
| 13.1.12. Parametri agregabilnosti trombocita u ispitivanim grupama | 132 |
| 13.1.13. Pokazatelji funkcionalnosti fibrinoliznog sistema u ispitivanim grupama | 133 |
| 13.1.14. Pokazatelji parametara crvene krvne loze u ispitivanim grupama | 134 |
| 13.2. Zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti tokom maturacije AVF u ispitivanim grupama | 135 |
| 13.2.1. Zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti distalnih AVF tokom maturacije u ispitivanim grupama | 138 |
| 13.2.2. Razlike u ispitivanim parametrima u podgrupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF | 141 |
| 13.2.3. Analiza povezanosti pojedinačnih parametara za funkcionalnost AVF kod svih ispitivanih pacijenata | 148 |
| 13.2.4. Analiza povezanosti pojedinačnih parametara za funkcionalnost distalne AVF | 149 |
| 13.3. Zastupljenost vrednosti biomarkera poremećene endotelne aktivacije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema | 150 |
| 13.4. Trombofilija, zastupljenost, vrste i ishod sazrevanja AVF u ispitivanim grupama | 152 |

| | |
|---|-----|
| 13.4.1. Biološki markeri aktivacije koagulacione | |
| komponente hemostaznog sistema u | |
| grupi ispitanika sa trombofilijom | 152 |
| 13.4.2. Trombofilija i ishod sazrevanja AVF u | |
| ispitivanim grupama | 153 |
| 13.4.3. Vrsta trombofilije i ishod sazrevanja AVF | 156 |
| 14. DISKUSIJA | 159 |
| 15. ZAKLJUČCI | 196 |
| 16. LITERATURA..... | 198 |

UVOD

Efikasna hemodijaliza u bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom (TBI) je moguća jedino ako je vaskularni pristup za hemodijalizu funkcionalan. Prema podacima Zavoda za zaštitu zdravlja Republike Srbije, broj bolesnika kojima je potrebna dijaliza godišnje raste za oko 4%. Ekonomska računica pokazuje da materijal za dijalizu svakog pacijenta našu državu godišnje košta 6.000 - 7.000 €. Finansijskim planom Republičkog Zavoda za zdravstveno osiguranje, od ukupno planiranih prihoda za 2016. godinu od 219.600.000.000 dinara, na usluge materijala za dijalizu predviđeno je izdvajanje od 4.481.577.000 dinara (oko 36.5 miliona €), odnosno 2.04 % ukupnog budžeta zdravstvenog osiguranja.

Zbog činjenice da se za uspostavljanje i održavanje vaskularnog pristupa za hemodijalizu kod bolesnika sa TBI troši oko $\frac{1}{4}$ sredstava izdvojenih za njihovo lečenje na godišnjem nivou, a da se oko 50% bolničkih dana ovih bolesnika koristi za pokušaj rešavanja nastalih problema u vaskularnom pristupu, njegovo održavanje u funkcionalnom stanju predstavlja značajan medicinski i državno-socijalnoekonomski problem. Sa napretkom farmakološkog pristupa i tehnološkim dostignućima primenjenim u savremenim aparatima za hemodijalizu, procenat smrtnosti ovih bolesnika je sa 20% snižen na 12%, što je činjenica koja paradoksalno povećava moguć broj pacijenata sa poremećenom funkcijom vaskularnog pristupa za hemodijalizu nastalom zbog njegove tromboze.

Zbog velikog broja bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom (HBI) kod kojih je hronična hemodijaliza terapija izbora, visoke incidence ranih tromboznih komplikacija arteriovenskih fistula i manjak istraživanja koja su se do sada u našoj populaciji bavila procenom efikanosti antitromboznih lekova u prevenciji pomenutih komplikacija, smatrali smo da je potrebno u našim uslovima izvesti ispitivanje kojim će se to učiniti.

U Kliničkom centru Vojvodine se u cilju prevencije rane tromboze arteriovenskih fistula za hemodijalizu tokom i nakon njihovog hirurškog kreiranja u bolesnika sa TBI rutinski ne primenjuje medikamentozni tretman. Primena antitromboznih lekova mogla bi imati komparativne prednosti.

Multidisciplinarni pristup, stvaranje specijalističkog tima lekara i terapeuta sa ciljem obezbeđivanja primarne i sekundarne funkcionalnosti vaskularnog pristupa za dijalizu predstavlja način kojim bi se zahtevima struke i državno-ekonomskim interesima moglo izaći u susret.

Ovaj rad predstavlja pokušaj doprinosa iznetim stavovima.

1. FIZIOLOGIJA HEMOSTAZNOG SISTEMA

Hemostazni sistem čini sastavni deo kardiovaskularnog organskog sistema. Svojim uravnoteženim funkcijama u održavanju cirkulišuće krvi u vaskularnom koritu, sprečavanju gubitka krvi stvaranjem ugruška na mestu povrede krvnog suda i kontrolom zgrušavanja krvi u okviru fiziološkog odgovora značajno doprinosi održavanja homeostaze ljudskog organizma. Narušavanje funkcionalne ravnoteže unutar hemostaznog sistema prevagom prokoagulantnih ili antikoagulantnih činilaca dovodi do pojave tromboze ili krvarenja (1)

Naglim razvojem saznanja o integralnim činiocima hemostaznog sistema od početka XX v. do današnjih dana, razumevanje njegovog funkcionisanja je doživelo značajan napredak i promene, počevši od prvog modela »4 faktora zgrušavanja« (Morawitz, 1905), potom »kaskadnog« (MacFarlane, 1964), odnosno modela »vodopada« (Davie, Ratnoff, 1964), do najnovijeg »ćelijskog« modela (Hoffman, 2001), kojim su obuhvaćena aktuelna saznanja o funkcionisanju hemostaze *in vivo*.

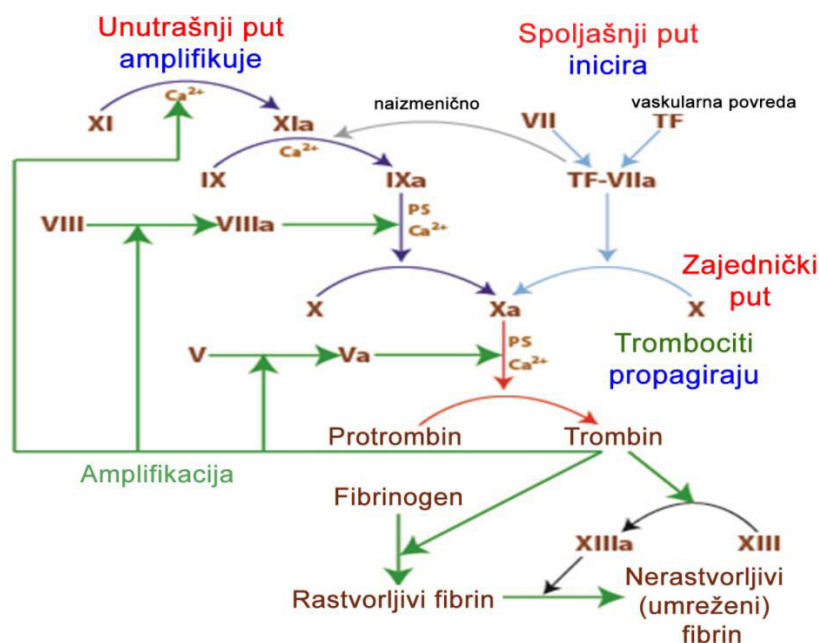
Model »4 faktora zgrušavanja« koagulaciju objašnjava delovanjem izlivenog tromboplastina tj. tkivnog faktora (TF) iz oštećenih krvnih sudova na protrombin, njegovu konverziju u trombin u prisustvu Ca^{++} , koji dovodi do pretvaranja fibrinogen u fibrin i formiranja krvnog ugruška (2).

Daljim otkrićem velikog broja hemostaznih činilaca šezdesetih godina prošlog veka, njihova funkcija je usklađena didaktičkom postavkom primarne, sekundarne (koagulacione) i tercijalne (fibrinolizne) komponente hemostaze. Do aktivacije primarne hemostaze dolazi povredom endotela krvnog suda čime se narušava njena antiagregaciona, antikoagulantna i profibrinolitička funkcija i oštećuje fizička barijera koja odvaja brojne protrombogene subendotelijalne strukture, von-Willenrad-ov faktor (vWF), koagen, fibronektin, vitronektin, laminin i TF od krvnih sastojaka (3).

Složenom interakcijom zida krvnog suda (vazokonstrikcija), adhezivnih proteina vWF i kolagena i trombocita, dolazi do njihove primarne aktivacije, jednoslojne adhezije, formiranja primarno nestabilnog, a potom i stabilnog belog tromboocnog tromba lokalizovanog na mestu povrede. Učinkovitost ovog procesa zavisi od adhezivnih trombocitnih glikoproteinskih receptora (GPIb), aktivacije integrina neophodnih za stabilnu adheziju trombocita za zid krvnog suda, i subendotelne i plazmatske koncentracije vWF. Sledstvenim angažovanjem trombocita uz porast intracelularne koncentracije Ca^{++} i oslobađanjem sadržaja trombocitnih granula (α granule i tamne granule), dolazi do agregacije tj. slepljivanja većeg broja trombocita posredstvom aktivacije odgovarajućih GPCR receptora (receptora uparenih sa G proteinom) za solubilne agoniste [adenozindifosfat (ADP), adenozintrifosfat (ATP), serotonin, tromboksan A_2 (TXA₂) i trombin] i receptora-integrina $\alpha IIb\beta_3$ (GPIIb-IIIa) za fibrinogen (4).

Otkriće plazmatskih komponenti hemostaznog sistema svrstanih u serinske proteaze, proenzime-zimogene koji mogu biti konvertovani u enzime [(pro)trombin-FII(a), FVII(a), FIX(a), FX(a), FXI(a) i protein C (PC)] i kofatora serinskih proteaza tj. profaktora koji mogu biti konvertovani u kofaktore koji ne poseduju enzimsku aktivnost [trombomodulin (TM), TF, FV(a) i FVIII(a)], dovelo je do postavljanja »kaskadnog« modela (model »vodopada«), koji su koagulacioni proces predstavili kao »Y šemu« sa *in vitro* jasno razgraničenim putevima koagulacije - »spoljašnjim« (van krvotoka) i »unutrašnjim« (unutar krvi). U aktivaciji prvog, presudnu ulogu igra kontaktna aktivacija FXII, dok je za aktivisanje drugog neophodno formiranje kompleksa aktivisanog FVII i tkivnog faktora (TF/FVIIa). Oba puta mogu aktivisati FX koagulacije, a sjedinjeni u tzv. »zajednički« put koagulacije i formiranjem kompleksa protrombinaze (aktivirani FX/aktivirani FV) dolazi do pretvaranja protrombina u trombin i fibrinogena u fibrin. Međutim, kliničke manifestacije izolovanih nedostataka pojedinih činilaca (FXII, kininogena

visoke molekulske težine-HMWK, prekalikreina-PK, FXI, FVIII, FIX i FVII) ustanovljenih puteva »Y« modela ukazale su da predloženi enzimski sistemi kao generatori stvaranja FXa *in vivo* ne deluju nezavisno i odvojeno (5, 6).



Slika 1. Shematski prikaz koagulacione kaskade

Novim saznanjima o funkcionisanju koagulacionog sistema *in vivo* početkom devedesetih godina potvrđena je dinamična uloga ćelijskih elemenata u hemostazi u sinhronizovanom formiranju koagulacionih kompleksa na fosfolipidnim membranskim površinama u prisustvu Ca^{++} , preklapanjem različitih ali istovremeno komplementarnih proteoliznih reakcija u inicijaciji i propagaciji procesa hemostaze (7).

Ćelijski koncept hemostaze takođe nudi objašnjenje za lokalizovanje procesa koagulacije krvi na mestu povrede krvnog suda čime se ograničava širenje procesa zgrušavanja duž vaskularnog stabla, a koje dovodi do patoloških poledica (8). TF je jedini koagulacioni protein stalno prisutan na ćelijskoj površini. Ostali [FVII, FIX, FX, protrombin, PC, protein S (PS) i protein Z (PZ)] se preko karboksiliranih rezidua

glutaminske kiseline (Gla) posredstvom Ca^{++} vezuju za negativno naelektrisane fosfolipide ćelijskih membrana. Takođe, kofaktori FV i FVIII poseduju regione za interakciju sa fosfolipidima. Enzimski sastav i asimetrična distribucija molekula membranskih fosfolipida [ADP zavisne flipaze i flopaze u fiziološkom stanju održavaju lokalizaciju neutralnih fosfatidilholina i sfingomijelina na spoljašnjem delu, a negativno naelektrisanih fosfatidilserina (PS) i fosfatidiletanolamina (PE) na unutrašnjoj površini membrane], nakon aktivacije ćelije (povećenje koncentracije Ca^{++} u citoslu) obezbeđuju premeštanje PS i PE (enzim skramblaza) na spoljašnju stranu ćelijske membrane, čime ona dobija prokoagulantno svojstvo, dok se brzina koagulacionih reakcija povećava više od hiljadu puta.

Fiziologija pojedinih ćelija određuje njihovu složenu ulogu u procesu koagulacije u zavisnosti od prokoagulantnog (trombociti) ili antikoagulantnog (endotelne ćelije) kapaciteta. Antikoagulantna svojstva endotelnih ćelija zasnovana su na sposobnosti produkcije heparin sulfatisanih proteoglikana (HSPG), TM i inhibitora tkivnog faktora (TFPI) dok je svojstvo tromborezistentne površine endotela zasnovano je na sposobnosti oslobađanja inhibitora aktivacije trombocita, među kojima su najznačajniji prostaglandin I_2 (prostaciklin) i azotni monoksid (NO) (9).

Evaluacija ćelijskog modela formiranja fibrinskog ugruška ukazuje na jasno, *in vivo* preklapanje pojedinih faza procesa koagulacije u kojima učestvuju dve vrste ćelija: ćelije-nosioci TF i trombociti. Proces je regulisan ostvarivanjem njihovog međusobnog kontakta samo u slučaju povrede, tj. kada se pojavi potreba za aktivacijom procesa koagulacije, a sastoji se od:

- faze inicijacije
- faze amplifikacije i
- faze propagacije

Faza inicijacije

Ćelije-nosioci TF (monociti, fibroblasti) lokalizovane su izvan vaskulature, a intaktni endotel prevenira njihov kontakt sa plazmatskim serin proteazama. Povređivanjem, dolazi do vezivanja aktivisanog FVII za TF na ćeliji-nosiocu. Kompleks TF-FVIIa vrši aktivaciju FIX i FX. Lokalizovani FXa vezuje par molekula novoformiranog FVa i sa TF-FVIIa gradi kompleks protrombinaze, koji cepanjem protrombina generiše malu količinu trombina. FXa ostaje u kompleksu vezan za ćelijsku membranu-nosioca TF zaštićen od dejstva inhibitora, a u slučaju odvajanja, biva neutralisan delovanjem antitrombina (AT) ili TFPI. Međutim aktivisani FIX, koji je manje od FXa podložan uticaju AT, a nikako i uticaju TFPI, može se odvojiti i premestiti na susedne nakupljene trombocite ili druge ćelije (10).

FVIIa je jedini koagulacioni protein koji je prisutan u krvi u aktivnoj enzimskoj formi u količini od 1% od ukupno cirkulišućeg FVII (svi drugi činioci koagulacije cirkulišu u neaktivnom obliku kao zimogeni). Mala molekulska masa FVIIa dozvoljava njegov prolazak kroz vrlo male međuendotelske pukotine, spajanje sa TF i inicijaciju koagulacije (stvaranje minimalnih količina trombina i u odsustvu povrede). Progresija procesa koagulacije moguća je kada trombociti i serinske proteaze velike molekulske mase (kompleks vWF/FVIII, FV, fibrinogen) nakon povređivanja napuste vaskularni i dodju u kontakt sa ćelijama-nosiocima TF u ekstravaskularnom prostoru (11).

Faza amplifikacije

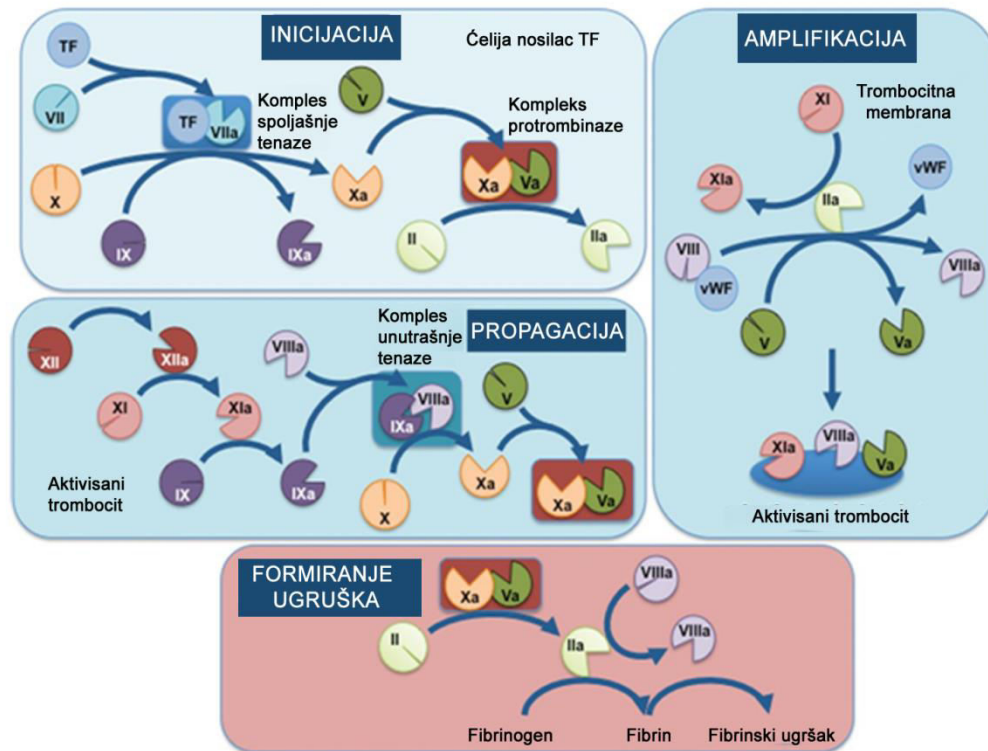
Mala količina inicijalno stvorenog trombina na ćeliji-nosiocu TF, vezuje se za svoje visokoafinitetne GPIb receptore na trombocitima »izlivenim« iz krvnog suda, dovodeći do porasta signalne celularne aktivnosti i aktivacije trombocita posredstvom proteazno aktivisanih receptora (PAR1/PAR4), promene njihovog oblika, »razmene« membranskih fosfolipida, otpuštanja agonista i sadržaja granula čime je obezbeđeno

dovoljno »sirovina« za ubrzavanje procesa zgrušavanja i aktivaciju okolnih trombocita (12, 13, 14).

Nakupljanjem fosfatidilserina formira se aktivisana, prokoagulantna membrana spremna za vezivanje koagulacionih proteina. Dodatno, na površini trombocita pod uticajem inicijalnog trombina dolazi do aktiviranja FV u FVa, razlaganja kompleksa vWF/FVIII (čime se obezbeđuje dodatna količina vWF za ranije započetu adheziju i nastavak agregacije trombocita) i aktivacije FVIIIa i FIXa. Na taj način su stvoreni svi uslovi za finalno stvaranje trombina u velikim količinama u fazi propagacije (15).

Faza propagacije

Finalna faza se odvija na aktivisanim trombocitima, jedinim ćelijama na kojima se propagacija koagulacije efikasno odvija s obzirom da njihova membrana poseduje koordinacioni kapacitet formiranja kompleksa tenaze (FIXa/FVIIIa) i kompleksa protrombinaze (FXa/FVa). Prethodno se na trombocitnoj površini, FIXa nastao tokom faze inicijacije sjedinjuje sa FVIIIa, dok se dodatne količine FIXa obezbeđuju vezivanjem FXIa za trombocit. Na trombocitnoj površini se takođe mora obezbediti direktno stvaranje FXa formiranjem kompleksa tenaze FIXa/FVIIIa s obzirom na ranije pomenutu nemogućnost efikasnog odvajanja FXa sa ćelije-nosioca TF, tako da se novostvoreni FXa na trombocitnoj membrani brzo udružuje sa FVa (u kompleks protrombinaze), dovodeći do »eksplozivne« produkcije trombina. Delovanjem trombina na fibrinogen odvajanjem fibrinopeptida A i B, stvaranjem solubilnih fibrinskih monomera i njihove polimerizacije uz istovremenu trombinsku aktivaciju FXIIIa, dolazi do stabilizacije fibrina i stvaranja krvnog ugruška. Završnom procesu pogoduje i dodatno nakupljanja trombocita na mestu povrede čime se stvara dovoljno velika površina za stvaranje trombina u potrebnoj količini (16, 17).



Slika 2. Shematski prikaz ćelijskog modela koagulacije

Stvoreni fibrinski ugrušak se razlaže aktivacijom fibrinoliznog sistema, sastavnog dela hemostaznog mehanizma. Zadatak velikog broja činilaca fibrinoliznog sistema, čije se fiziološke uloge prepliću, je obezbeđivanje dinamske ravnoteže između procesa zgrušavanja krvi i razgradnje koaguluma. Na taj način fibrinolizni sistem predstavlja jednu komponentu fiziološkog balansa, koji funkciju hemostaznog sistema čini uravnoteženom, dok drugu čini koagulacioni sistem. Prevaga aktivatora fibrinolize može dovesti do nastanka hemoragijskog sindroma, dok dominacija inhibitora za posledicu može imati razvoj tromboze. Harmonična funkcionalnost fibrinoliznog sistema predstavlja uslov neometanog delovanja hemostaznog mehanizma u održavanju homeostaze organizma (18).

Fibrinolizni proces započinje aktivacijom serinske proteaze plazmina, koji poseduje protelizno enzimsko dejstvo, a koji nastaje iz neaktivnog prethodnika, proenzima plazminogena. Aktivaciju plazminogena mogu započeti plazmatski činiloci »unutrašnjeg

puta« (FXII, PK, HMWK i trombin), dok su za drugi način njegove aktivacije odgovorni tkivni (t-PA) i mokraćni aktivator plazminogena (u-PA) stvoreni u tkivima ili endotelu (19).

Proces fibrinolize je kontrolisan inhibitornim delovanjem aktivatora plazminogena 1 i 2 (PAI-1, PAI-2). PAI-1 je najznačajniji modulator fibrinoliznog sistema koji svojim plazmatskim vezivanjem za t-PA (svega 5% se nalazi u slobodnom obliku) i za u-PA sprečava nastanak i širenje intravaskularne fibrinolize. Takođe inhibicija rane fibrinolize započinje generisanjem trombina koji aktivira trombinom aktivisani inhibitor fibrinolize (TAFI), čime se neposredno nakon formiranja vrši zaštita liziranja i stabilizacija tromba (20). Najznačajniji direktni fiziološki inhibitor cirkulišućeg plazmina je α_2 -antiplazmin.

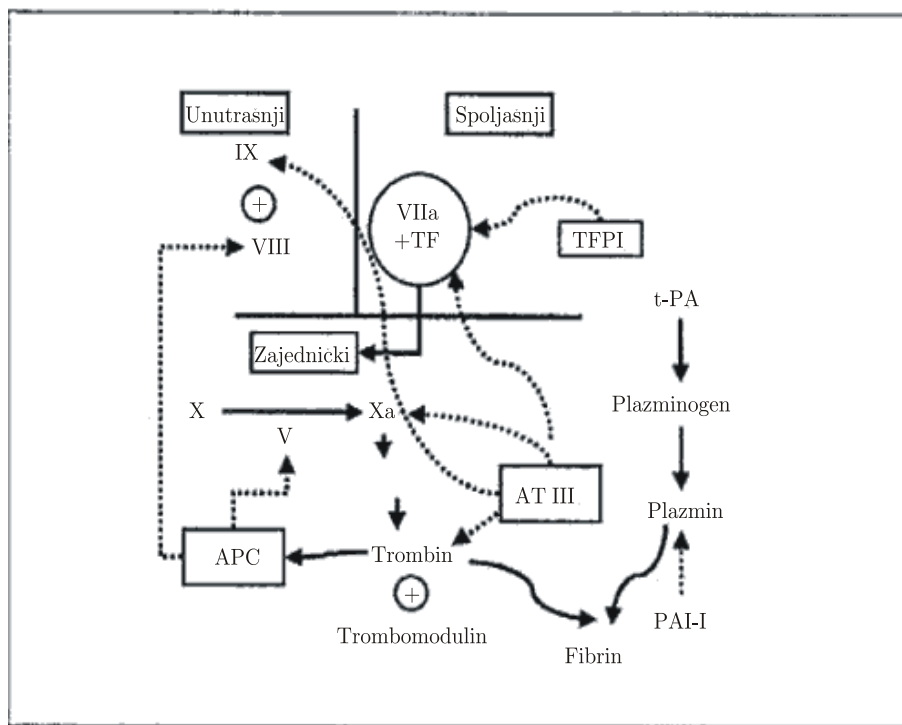
Plazmin, nastao prethodnim ko-lokalizovanim vezivanjem t-PA i plazminogena na površini fibrinskog koaguluma (čime se proces oganičava), razlaže argininske i lizinske veze u molekulima fibrina (21) i fibrinogena pri čemu nastaju rastvorljivi fibrin/fibrinogen degradacioni produkti (FDP) – fragmenti (X, Y, D i E). U fiziološkim uslovima kontrolisanim prisustvom α_2 -antiplazmina takođe vezanog za fibrin, biće sprečena i prerana liza koaguluma, a dejstvo plazmina ograničeno isključivo na fibrin krvnog ugruška. U patološkim stanjima hiperplazminemije proces zahvata i razgradnju fibrinogena.

Razgradnjom fibrina, stabilizovanog delovanjem FXIIIa, koji je doveo do stvaranja kovalentnih ukrštenih peptidnih veza između fibrinskih polimera, nastaju dvostruki D fragmenti – D dimer (22).

Regulacija i kontrola intenziteta koagulacije krvi se ostvaruje delovanjem prirodnih inhibitora koagulacije, održavanjem fizioloških hemodinamskih uslova u cirkulaciji i klirensnom funkcijom mononukleusno-fagocitnog sistema (23).

Produkcija fibrina je pod kontrolom četiri velika fiziološka inhibitorna sistema:

1. antitrombin, koji inaktiviše trombin, FXa, FIXa, FXIIa
2. proten C/protein S sistem, koji inaktiviše FVa i FVIIIa
3. inhibitor tkivnog faktora (TFPI) koji inaktiviše kompleks TF/VIIa i FXa
4. fibrinolizni sistem



Grafikon 1. Shematski prikaz mesta delovanja antitrombina, aktivisanog proteina C i inhibitora tkivnog faktora

2. HRONIČNA BOLEST BUBREGA

Hronična bolest bubrega (HBB) je značajan svetski medicinski problem, epidemiološki entitet i globalni zdravstveno-socijalni izazov. Zbog hroničnog i progresivnog toka HBB takođe predstavlja najvažniji faktor rizika za razvoj hronične bubrežne insuficijencije (HBI) i izuzetno visokog kardiovaskularnog komorbiditeta i mortaliteta. Pojam hronične bubrežne bolesti obuhvata spektar različitih patofizioloških procesa koje karakteriše oštećena bubrežna funkcija i progresivan pad jačine glomerulske filtracije (JGF). Bez obzira na etiologiju, destrukcija funkcionalne mase bubrega (ireverzibilna skleroza i gubitak nefrona), vodi progresivnom smanjenju JGF i nastanku hronične bubrežne insuficijencije (24).

Epidemiološke studije procenjuju da oko 500 miliona ljudi u svetu boluje od HBB, a da njih 80% živi u nerazvijenim ili zemljama u razvoju (zemlje sa niskim ili srednjim godišnjim primanjima stanovništva) (25). Ovaj ogroman broj bolesnika koji se nalaze u nekom stadijumu HBB posledica je »epidemijskog« porasta obolelih od dijabetesa i hipertenzivne bolesti (najvažnijih etioloških faktora HBB) i produženja životnog veka ljudi. Rizik od pojave progresivne HBB u populaciji koja pripada najnižem socioekonomskom kvartilu je 60% veći nego u najvišoj socioekonomskoj populacionoj grupaciji (26). HBB takođe predstavlja značajano finansijsko opterećenje za obolele, posebno u zemljama u razvoju u kojima većina nema stalno zdravstveno osiguranje, čime su zdravstvene usluge u završnim stadijumima bolesti tj. u HBI za najveći deo njih nedostupne (27). U svetu se trenutno preko dva miliona ljudi leči nekom od tri metode zamene funkcije bubrega (hemodijaliza, peritoneumska dijaliza, transplantacija bubrega), a razmera troškova se ogleda u podatku da se u razvijenim zemljama za njihovo zbrinjavanje troši oko 2-3% ukupnih sredstava zdravstvenog osiguranja iako oni čine svega 0.1–0.2% ukupne populacije. U SAD je 2010. godine za lečenje bolesnika sa HBI potrošeno je 6.1%

od ukupnog budžeta Medicare-a, dok je u Japanu taj iznos predstavljao 4.1% zdravstvenog budžeta (28, 29). Procenjena prevalenca HBB u svetu iznosi 8-16% , u Evropi i Severnoj Americi ~ 10%, u SAD 13.1 %, a kod starijih osoba 23.4 - 35.8%. (30, 31, 32). Rizik pojave HBB se ne razlikuje između polova (33).

Opšteprihvaćena najbolja mera funkcije bubrega je JGF čija vrednost direktno korelira sa brojem funkcionišućih nefrona (34).

Hronična bubrežna bolest se definiše kao oštećenje strukture ili funkcije bubrega i/ili kao smanjenje nivoa JGF manje od 60 ml/min/1.73m² u trajanju od najmanje 3 meseca (35). Revizija ove definicije koju je februara 2002. godine formulisala NKD K/DOQI (National Kidney Foundation, Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) u vodiču za evaluaciju, klasifikaciju i startifikaciju HBB, izvršena je od strane KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) 2012. godine. Za postojanje HBB je uz JGF (≤ 60 ml/min/1.73m²), kao kriterijum naveden uslov prisutnosti jednog od dopunskih markera oštećenja strukture ili funkcije bubrega: albuminurija (≥ 30 mg/24h) ili odnos albumin/kreatinin ≥ 30 mg/g (3 mg/mmol); patološki nalaz sedimenta urina (erotriciturija, leukociturija, cilindurija); laboratorijski nalaz poremećene tubulske funkcije (elektrolitski disbalans); pozitivan patohistološki nalaz oštećenja bubrežnog parenhima; strukturne promene bubrega detektovane tehnologijama vizualizacije; podatak o transplantaciji bubrega.

Takođe je izvršena dopuna kategorizacije stadijuma HBB u odnosu na JGF (Tabela 1) (36).

Tabela 1. Stadijumi HBB u odnosu na JGF

| Kategorija JGF | JGF (ml/min/1.73 m ²) | Termini |
|----------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| G 1 | ≥90 | Normalna ili visoka |
| G 2 | 60-89 | Blago snižena* |
| G 3a | 45-59 | Blago do umereno snižena |
| G 3b | 30-44 | Umereno do značajno snižena |
| G 4 | 15-29 | Značajno snižena |
| G 5 | <15 | Terminalna bubrežna isuficijencija |

Leganda: *relativno kod mlađih osoba; ukoliko ne postoji dokaz bubrežnog oštećenja ni G1 ni G2 ne ispunjavaju kriterijum za HBB

Procene incidence i prevalence HBB variraju između pojedinih zemalja reflektujući demografske osobenosti, različite faktore rizika, etiološke činioce, dostupnost lečenja svih stadijuma bolesti, ukupne kapacitete i metodologiju rada javnog zdravstva (37). Epidemiološki podaci o ranim stadijumima HBB iz različitih delova sveta su opterećeni nekonzistentnošću nastalom zbog heterogenosti ispitivane populacije i različitim metodama koje su korišćene za određivanje JGF i proteinurije (30).

Tabela 2. Prevalenca pojedinih stadijuma HBB u Republici Srbiji (38)

| Stadijum HBB | Prevalenca (%) |
|--------------|----------------|
| 1. | 3.3 |
| 2. | 3.0 |
| 3a | |
| 3b | 4.3 |
| 4. | 0.2 |
| 5. | 0.2 |

Početni, prvi i drugi stadijum HBB su asimptomatski, uz strukturalne i funkcionalne promene i eventualnu pojavu arterijske hipertenzije, dok je nivo azotnih materija (urea i kreatinin) u fiziološkim granicama. Dodatni elemenat za postavljanje dijagnoze HBB u prva dva stadijuma bolesti predstavljaju perzistirajuća proteinurija, količnik albumin/kreatinin ≥ 0.2 mg/mg kreatinina ili mikroalbuminurija tj. izlučivanje albumina u količini ≥ 30 mg/24h. Paralelno sa padom broja funkcionišućih nefrona dolazi do pojave azotemije koja se pogoršava u skladu sa padom JGF, pri čemu se za hronicitet smatra stanje kada je JGF snižena barem 3-6 meseci. Istovremeno se javljaju abnormalnosti laboratorijskih parametara kao posledica disfunkcije drugih organskih sistema. Pad JGF može trajati godinama, a sa kliničkog aspekta veoma je značajno razlikovati relativno stabilnu HBI (karakteriše je održavanje sličnih vrednosti JGF u dužem vremenskom periodu) od progresivne HBI, koju obeležava rapidni pad JGF. Na kraju, bubrežna bolest progredira do terminalnog stadijuma koji zahteva zamenu bubrežne funkcije dijaliznim tretmanom ili transplantacijom bubrega (39).

Pojam hronična bubrežna insuficijencija ukazuje na kontinuirani, ireverzibilni proces smanjenja broja funkcionišućih nefrona i obično odgovara 3a, 3b, 4. ili 5. stadijumu HBB. Rizik mortaliteta u pojedinim grupama hroničnih bubrežnih bolesnika je različit i progresivno raste zajedno sa prevalencom oštećenja bubrega sa umerenim smanjenjem JGF (G3a) (40). Napredovanje bolesti je udruženo sa porastom rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB): progresivne i teške ateroskleroze, ishemijske bolesti srca i kardiovaskularne smrti. Više od 50% bolesnika sa HBB umire od KVB pre započinjanja lečenja metodama zamene bubrežne funkcije.

Najčešći etiološki činioci terminalne insuficijencije bubrega kod bolesnika koji su započeli lečenje metodama za zamenu funkcije bubrega u 2013. godini u Republici Srbiji je hipertenzija (27%) i dijabetes melitus (23%) [tipa 1 (~8.5%); tipa 2 (~14.5%)], potom

glomerulonefritis i pijelonefritis (20%), autosomno dominantno nasledna policistična bolest bubrega (4%), endemska nefropatija (2%) i ostali uzroci (24%) (41).

Svaka HBB koja uzrokuje postepeno, progresivno i ireverzibilno smanjenja JGF < 15 ml/min/1.73m² dovodi do sindroma TBI, tj. do uremije, završnog stadijuma svih bubrežnih bolesti bez obzira na etiološke činioce (24). Uremiju karakterišu opšti i poliorganski simptomi i znaci koji su posledica retencije azotnih materija (ureja, kreatinin, mokraćna kiselina) i nagomilavanja uremijskih toksina nastalih u toku metabolizma (fenoli, indoli, gvanidilsukcila kiselina, parathormon i dr), promena u volumenu i sastavu telesnih tečnosti i elektrolita i disbalansa mnogih hormona.

3. KARAKTERISTIKE POREMEĆAJA FUNKCIONALNOSTI HEMOSTAZNOG SISTEMA U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

U hroničnoj bubrežnoj bolesti prisutan je kompleksan poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema, kao jedna od njenih mnogobrojnih komplikacija. Učestalost i težina poremećaja najčešće direktno koreliraju sa patofiziološkim parametrima osnovne bolesti, progresijom i stepenom gubitka bubrežne funkcije i stadijumom HBI tj. sa uremijskim stanjem, koje je po pravilu uvođenjem adekvatne zamene bubrežne funkcije samo parcijalno reverzibilno.

Početne stadijume HBB karakterišu aktivacija koagulacionog sistema, prisustvo protromboznog stanja i povećen rizik za arterijski i venski tromboembolizam, kome se u zavšnoj uremijskoj fazi bolesti pridružuje krvareća dijateza. Poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema koji se klinički manifestuje trombozom ili krvarenjem, predstavlja važan činilac povećanog morbiditeta i mortaliteta kod bubrežnih bolesnika (42, 43).

Aktivirani hemostazni sistem u HBB i istovremeno prisutvo visoke sklonosti za ateroskrozu uz hroničnu inflamaciju („tromboinflatorna“ bolest), predstavlja patofiziološku osnovu razvoja kardiovaskularnih bolesti. U slučaju formiranja arterijskog tromba (aterotromboza), KVB se kod bubrežnih bolesnika klinički najčešće ispoljavaju kao akutni koronarni sidrom (akutni infarkt miokarda, AIM), akutni moždani udar (AMU) i periferna arterijska okluzivna bolest (PAOB). KVB predstavljaju najvažniji uzrok povećene stope smrtnosti bolesnika u HBB. Rizik pojave KVB kod bolesnika sa oštećenom bubrežnom funkcijom je 10 do 20 puta veći nego kod zdravih (44). Hiperkoagulabilnost je takođe osnovni uzrok tromboze i retromboze arteriovenske fistule (ili nekog drugog dijaliznog pristupa), kao i tromboze dubokih vena (DVT) i plućnog tromboembolizma (PTE), koje doprinose visokim stopama morbiditeta i mortaliteta u HBI (45). Rizik od venskog tromboembolizma (VTE) raste već pri padu JGF < 75 ml/min/1.73 m². U ranim stadijumima HBB rizik od VTE proporcionalan je albuminuriji (46). Sa

progresijom bubrežne bolesti raste i rizik za VTE, koji je u umerenim stadijumima (stadium II, sa prisutnom mikroalbuminurijom) povećan 1.3-2 puta, dok je u terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji 2.3 puta viši u poređenju sa zdravim osobama (47).

Pored činjenice da HBB sama po sebi predstavlja nezavisan faktor rizika za KVB, povećanju rizika za pojavu KVB i VTE (DVT, PTE) doprinosi i veća prevalenca poznatih „protrombogenih“ kardiovaskularnih rizikofaktora prisutnih u HBB koji potenciraju prokoagulantno stanje (starije životno doba, prisustvo HBB u porodici, pušenje, dijabetes melitus tip II, hipertenzija i gojaznost) kao i prisustvo anemije, oksidativnog stresa, hroničnog ili rekurentnog zapaljenja, hiperparatireoidizma, smanjene JGF (≤ 30 ml/min 1.73 m²), dislipidemije, mikro- ili makro- albuminurije i malnutricije, kao posledica oštećene funkcije bubrega (48, 49, 50, 51).

Udruženost HBB i KVB uglavnom je nezavisno u odnosu na godine, pol i etničku pripadnost (podaci se odnose na opštu populaciju u SAD, EU, Tajvanu i J.Koreji). HBB je najčešće uzrokovana hipertenzivnom bolešću ili dijabetes melitusom, pa je dugo vremena smatrano da su pozadina povećanog rizika za nastanak KVB u HBB pomenute bolesti. Međutim, meta analize su pokazale da su oštećena bubrežna funkcija i porast albuminurije kardiovaskularni faktori rizika nezavisni od hipertenzije i dijabetes melitusa. Pretpostavka je potkrepljena zapažanjem da 40-50% bolesnika sa niskom JGF i visokom albuminurijom nema dijabetes melitus ili hipertenziju, kao i da je udruženost JGF i albuminurije sa kardiovaskularnim mortalitetom kod ovih bolesnika slična kao kod hroničnih bubrežnih bolesnika koje nemaju dijabetes ili hipertenziju. Zbog toga osobe sa HBB treba svrstati u najrizičniju grupu bolesnika za KVB (52). Incidenca kardiovaskularnog mortaliteta kod bolesnika sa umrenim stadijumom HBB je mnogo veće od incidence razvoja HBI kod istih bolesnika. Međutim, kod bolesnika sa teško oštećenom bubrežnom funkcijom (stadium 4), rizik za razvoj terminalnog stadijuma bubrežne bolesti prevazilazi rizik od KVB (53, 54).

Sa druge strane, od davnina je poznato prisustvo povećane sklonosti ka krvarenju u hroničnim bubrežnim bolestima i uremijskom stanju, opisano prvi put u medicinskim delima krajem XVIII v. (Giovanni Batista Morgani) i sredinom XIX v. (Richard Bright) (55, 56). Različiti oblici krvarenja pristni su kod polovine bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom. Iako multifaktorijalna patogeneza uremijskog krvarenja nije do kraja definisana, najčešći uzrok krvarenja predstavlja funkcionalni ispad primarne hemostaze. Klinički se manifestuje pojavom krvarenja na koži i mukozama (petehija, purpura, epistaksa, krvarenje na mestu punkcije). Uremijska krvarenja doprinose ukupnom morbiditetu hroničnih bubrežnih bolesnika (stopa krvarećih komplikacija kod bolesnika na hemodijalizi iznosi 10-15%) , a njihovo prisustvo može dovesti do odlaganja hirurških zahvata i ugroziti život pacijenta. Krvarenja iz vitalnih organa, mada ređe zastupljena, mogu dovesti do fatalnih posledica: gastrointestinalna krvarenja su prisutna u trećini bolesnika sa HBI (Galbusera i sar., 2009, Katsumi i sar., 1998); incidenca hemoragijskog moždanog udara je 5-10 puta veća u poređenju sa zdravim (Selinger i sar., 2003, Toyoda i sar., 2005), a subduralnog hematoma 20 puta; moguća su spontana retroperitonealna krvarenja, subkapsularni hematomi jetre, intraokularne hemorgije i hemoragični perikarditis sa srčanom tamponadom. Mortalitet kod ovih bolesnika iznosi preko 40% (Power i sar., 2010). Krvarenje signifikantno povećava mortalitet (relativni rizik, RR=2.57) kod bolesnika sa HBI (42, 57). Rizik od krvarenja nije u korelaciji sa vrednostima serumskog kreatinina niti sa težinom anemije (43).

Najkraće rečeno, u HBB izmenjena je funkcionalnost svih komponenti hemostaznog sistema (primarne endotelno-trombocitne, sekundarne-koagulacione i tercijalne-fibrinolizne), a uticaj svih poremećaja nije do kraja razjašnjen. U početnim fazama HBB dominiraju poremećaji koji stvaraju uslove za prokoagulantno stanje (i pojačan rizik za pojavu venskog tromboembolizma i KVB), dok se u uznapredovalim

stadijumima bolesti, progresijom uremijskog stanja, perzistirajućoj hiperkoagulabilnosti, pridružuju poremećaji funkcije primarne hemostaze (sa visokim rizikom za pojavu krvarenja).

Paradoksalnu koegzistenciju hiperkoagulabilnog stanja i sklonosti ka krvarenju u HBI, didaktički možemo razmotriti u skladu sa Astrupovim konceptom „hemostaznog balansa“ i fiziološke ravnoteže prokoagulantnih i antikoagulantnih principa. Do manifestne tromboze ili krvarenja u HBI dolazi tek onda kada nastupi dominacija činilaca koji stimulišu proces koagulacije (uz smanjen ili prevaziđen kapacitet prirodnih inhibitora, intenzitetom stimulusa ili stepenom aktivacije koagulacije) ili prevaga činilaca koji ga sprečavaju (58).

Jedinstven laboratorijski prediktorni marker za evaluaciju protrombozne ili krvareće tendencije u bolesnika sa HBB nije utvrđen. Takođe ne postoji stručni konsenzus o jedinstvenom farmakološkom tretmanu hiperkoagulabilnog stanja i/ili krvareće dijateze u HBB (42).

4. ENDOTEL U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

4.1. Fiziologija endotela

Interesovanje i saznanja o endotelu poslednjih decenija su u stalnom porastu, tako da je danas poznato da endotel ne predstavlja samo semipermeabilnu strukturu sastavljenu od jednoćelijskog sloja koja oblaže srce, krvne sudove i organske šupljine (endokardijum, arterije, arteriole, kapilare, venule i vene), već i aktivan organ sa autokrinom, endokrinom i parakrinom funkcijom (59). Endotel kao strukturni deo zida krvnog suda, sa jedne strane čini fizičku barijeru koja odvaja lumen krvnog suda od subendotelskih struktura, a sa druge, svojom semipermeabilnim svojstvima u procesima celularne i nutritivne razmene uključen je u mehanizme tkivne autoregulacije (60):

1. vazoaktivacije (vazokonstrikcija i vazodilatacija regulišu protok krvi kroz organe);
2. održavanja protoka krvi (lokalna ravnoteža prokoagulantne i antikoagulantne aktivnosti);
3. proinflamatornim i antiinflamatornim procesima (sinteza medijatora, posredovanje u adherenciji trombocita i leukocita posle povrede ili tokom zapaljenja);
4. rastu i promeni fenotipskih osobina glatkomišićnog ćelijskog (GMĆ) sloja;
5. angiogenezi (stvaranje novih krvnih sudova interakcijom sa cirkulišućim ćelijama krvi) i
6. programiranoj ćelijskoj smrti. Svaki proces je specifično regulisan i odražava heterogenost populacije endotelnih ćelija, čiji je fenotip determinisan embrionskim poreklom (makro ili mikrovaskulatura) i lokalnim tkivnim histo-anatomskim osobenostima (61, 62, 63).

Fiziološke funkcije regulisanja ćelijsko-molekularnog transporta, vaskularnog tonusa, antiinflamatornog odgovora, adhezije, agregacije i aktivacije trombocita, antikoagulantne i profibrinolizne («teflonske») površine, adhezije i migracije leukocita, ćelijskog rasta, inhibicije migracije i proliferacije GMĆ, endotel obavlja lučenjem i/ili eksprimovanjem mnoštva bioaktivnih molekula u kontaktu sa mnogobrojnim ćelijskim i humoralnim medijatorima (64).

U fiziološkim uslovima (u stanju mirovanja), endotelne ćelije održavaju vazodilatatorni, antikoagulantni i antiadhezivni fenotip, koji se u slučaju aktivacije, zamenjuje prokoagulantnim, proadhezivnim (proinflamatornim) i vazokonstriktivnim (65).

Vazodilatatorni fenotip podrazumeva visoku koncentraciju NO i PGI₂ i nizak nivo reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) i mokraćne kiseline (ac.uricim). Antikoagulantni karakter endotela počiva na niskom nivou PAI-1, vWF i P-selektina. Odsustvo inflamacije se ogleda u niskoj koncentraciji solubilnog VCAM (vascular cell adhesion molecule), solubilnog ICAM (intracellular adhesion molecule), E-selektina, CRP (C reaktini protein), TNF_α (tumor necrosis factor α) i IL-6 (interleukin 6). Kapacitet vaskularnog obnavljanja je visok, meren zastupljenošću populacije endotelnih progenitorskih ćelija (EPC), dok je indikator endotelnog oštećenja/stresa izražen brojem cirkulišućih endotelnih ćelija (CEC) nizak. U slučaju endotelne disfunkcije dolazi do vazokonstrikcije, pojačava se prisustvo merкера oksidativnog stresa, a fiziološki zamenjuje prokoagulantni i proinflamatorni fenotip endotela sa sniženim kapacitetom vaskularne obnove i povećanog broja EMP i CEC (66).

Modulacijom vaskularnog tonusa (vazodilatacije i vazokonstrikcije), endotel ima važnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska i optimalnog protoka krvi, sintezom vazodilatatora NO i PGI₂, i vazokonstriktora endotelina-1 (ET-1) i endotelnog hiperpolarizujućeg faktora (EDHF - endothelium-derived hyperpolarizing factor) (67). Fiziološki vaskularni tonus je u vazodilatatornom stanju, a autoregulacija se odvija pod dejstvom hemodinamskih sila, pulsatilne sile i sile trenja ("shear stress"), koje mehaničkim dejstvom na zid krvnog suda stimulišu endotelnu NO-sintetazu (eNOS) i sintezu NO. Slobodni radikal NO difunduje u glatkomišićni sloj, gde aktivacijom gvanil-ciklaze povećava produkciju cikličnog gvanozin-monofosfata (cGMP) što smanjuje intraćelijsku količinu Ca⁺⁺ i dovodi do vazodilatacije (68). Endotelna disfunkcija i posledično smanjena bioraspoloživost NO

predstavlja jedan od najvažnijih rizika nastanka KVB, a ekspresija endotelnog NO takođe je izmenjena u aterosklerozi, dijabetesu i hipertenziji, tako da je fiziološko prisustvo NO premise vaskularnog zdravlja (69). NO, zajedno sa PGI₂, trombospondinom, transformišućim faktorom rasta-beta (TGF-β) i interferonom-gama (INF-γ), antagonizuje faktor rasta GMC (SmcGF), čime su u fiziološkim uslovima inhibisana proliferacija, migracija i diferencijacija glatkih mišićnih ćelija. Kao odgovor na lokalne stimulse, GMC ima sposobnost terminalna diferencijacije i modeliranje fenotipa, a ovaj proces zauzima značajnu ulogu u patogenezi ateroskleroze, intimalne hiperplazije, hipertenzije i stvaranju aneurizmi. Proces je podržan i održavanjem balansa između jona Ca⁺⁺ (kontrakcija i proliferacija glatkih mišićnih ćelija) i cikličnog adenzin monofosfata (cAMP) (vazorelaksacija i inhibicija proliferacije) (70, 71). Kao modulator i regulator inflamatornog odgovora, NO stabilizuje citoplazmatski protein IκB, inhibitornu subjedinicu NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), koja održava ovaj proinflamatorni transkripcioni činič DNK u neaktivnom stanju i na taj način inhibiše ekspresiju leukocitnih adhezivnih molekula, produkciju hemokina i citokina (72). Glavni fiziološki stimulus sinteze NO predstavlja “shear stress” (sila trenja koju krvna struja vrši na zid krvnog suda) kao i tzv.vazodilatacija posredovana protokom (flow-mediated-vasodilatation, FMD) (73). Pored “shear stress”-a najveći uticaj na ushodnu regulaciju sinteze i aktivnosti NO imaju pol, hormoni (estrogeni, testesteron, tireoidni hormon, adrenalin), insulin, adiponektin, ishrana (Ω3 nezasićene masne kiseline, zeleni čaj, sok od grejpfruta i nara, čokolada bogata kakaom) i L-arginin, dok na nishodnu regulaciju utiču oksidisani slobodni radikali, hormoni (aldosteron i melatonin), starija životna dob, pušenje, hiperhomocisteinemija, hiperholesterolemija, gojaznost i “sleep” apnea (74).

Stimulisana endotelna ćelija dejstvom agonista (na receptore) koji povećavaju intracelularni Ca^{++} , istovremeno oslobađa NO i PGI_2 , dejstvom kalcijuma na aktivaciju eNOS (koja delovanjem na aminokiselinu L-arginin sintetise NO) i fosfolipaze A_2 [oslobađa arahidonsku kiselinu iz membranskih fosfolipida, koji se preko delovanja ciklooksigenaze COX-1 metaboliše u prostanglandin PG_2 , (peroksidaze) u prostaglandin PGH_2 (prostaciklin sintetaze) i u prostaciklin PGI_2]. Sinteza NO se odvija kontinuirano (za aktivaciju eNOS potrebne su manje količine intraćelijskog Ca^{++} , koje su konstantno na raspolaganju), dok je sinteza PGI_2 pulzatilna (odvija se samo pod visokim koncentracijama Ca^{++} , odmah nakon dejstva stimulus na ćelijski receptor). PGI_2 je (kao i NO) ključni kardioprotektivni hormon. PGI_2 delujući preko površinskih receptora (IP) na adenilat ciklazu (što dovodi do konverije ATP u cAMP) ili preko citosolnih nuklearnih receptora PPAR β (peroxisome proliferator-activated receptor beta) inhibiše aktivaciju trombocita snižavanjem nivoa Ca^{++} , smanjuje rizik od tromboze, deluje vazodilatatorno, smanjuje potencijal remodeliranja GMĆ i smanjuje preuzimanje holesterola (antagonizuje delovanje tromboksana, koji aktivira trombocite, izaziva vazokonstrikciju i proliferaciju GMĆ). cGMP i cAMP u aktivnosti NO i PGI_2 imaju ulogu sekundarnih glasnika (75).

Specifični endotelni biomarkeri (ekspimirani samo na endotelnim ćelijama) su E-selektin, vaskularni mukozni adhezioni molekul adresin (mucosal addressin cell-adhesion molecule-1-MadCAM-1), asimetrični dimetilarginin (ADMA) i CEC (75). Adhezioni molekuli (E-selektin, P-selektin, vazocelularni adhezivni molekul-VCAM-1 i intracelularni adhezioni molekul-ICAM) koji kontrolišu migraciju leukocita na vaskularnom endotelu, u fiziološkim uslovima, uopšte nisu ili su veoma malo ispoljeni na ćelijskoj površini (64).

Neki od najčešće merenih biomarkera endotelne disfunkcije i/ili aktivacije, su selektini (E- i P-selektin), adhezivni proteini, pripadnici superfamilije imunoglobulina (ICAM-1, VCAM-1), ADMA, proinflamatorni markeri interleukini (IL-1, IL- 6, IL-18,

CRP), hemokin IL-8, pro/antikoagulatni biomarkeri (vWF, PAI-1, TM). Kao markeri endotelnog oštećenja i reparacije detektuju se CEC, endotelne mikropartikule (EMP) i endotelne progenitorne ćelije (EPC) (76).

Intaktan vaskularni endotel onemogućava adheziju trombocita i odvaja neaktivne koagulacijske činioce od reaktivnih subendotelnih molekula, a uravnoteženim odnosom lučenja antikoagulantnih/prokoagulantnih i profibrinolitičkih/antifibrinolitičkih materija učestvuje u fiziološkom ekvilibrijumu procesa koagulacije i fibrinolize: antikoagulantno (antagonizovanjem TF i trombina) - vezivanjem AT, ekspresijom TM i aktivacijom PC, ekspresijom endotelnog PC receptora (EPCR), oslobađanjem TFPI; kontrolom trombocitne adhezije i aktivacije: sintezom i oslobađanjem vWF, razgradnjom velikih molekula vWF (ultra large-UL vWF) delovanjem ADAMTS13/vWFPCP (a desintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13/von Willebrand factor cleaving protease), sintezom HSPG (negativan elektrostatički naboj endotelne površine), sintezom NO i PGI₂/PGE₂ i ekspresijom ektonukleotidaza; modulacijom fibrinoliznog procesa: sintezom i oslobađanjem t-PA i indukcijom PAI-1. Oslobađanjem u-PA/UPAR (urokinase type Plasminogen Activator) i MT1-MMP (membrane type 1 metalloproteinase), endotel doprinosi ćelijskoj diseminaciji tumorskih procesa. Dezintegracijom trombocitnih agregata (delovanjem trombina na ADAMTS18) učestvuje u reparaciji tkiva. Vazoregulacija je delom pod uticajem endotela, a nakon povređivanja, konstrikcijom i dilatacijom krvnog suda pomaže izmeštanje inicijalnog tromba u cilju oštećenja manje tkivne površine (77).

U Tabeli 3. su prikazane mnogobrojne uloge endotela u regulaciji različitih fizioloških i patoloških procesa, dok su u Tabeli 4. nabrojani faktori rizika i molekularni mehanizmi koji doprinose endotelnoj disfunkciji.

Tabela 3. Uloga endotela u regulaciji različitih fizioloških i patoloških procesa

| Regulacija procesa | Fiziološka | Patološka |
|------------------------------------|---|---|
| Vaskularni tonus | <u>Vazodilatacija</u> Azot monoksid (NO) Prostaciklin Eothelium-derived hyperpolarizingfactor (EDHP) C-natriurični peptid (CNP) Bradikinin | <u>Vazokonstrikcija</u> Endotelin-1 Tromboksan A ₂ Prostaglandin H ₂ Angiotenzin II Reaktivne kiseonične vrste (ROS) |
| Permeabilnost | Proteini ćelijskih spojeva Glikokaliks ćelijske površine Ekstracelularni matriks | Inflamatorni molekuli Endocitni receptori |
| Hemostaza | <u>Antikoagulantni, antitrombozni i fibrinolizni činioci</u> Azotni monoksid (NO) Prostaciklin Trombomodulin Inhibitor tkivnog faktora (TFPI) Tkivni aktivator plazminogena (t-PA) | <u>Prokoagulantni, protrombozni, antifibrinolizni činioci</u> Endotelin-1 Tromboksan A ₂ ROS Tkivni faktor (TF) von Willebrandov faktor (vWF) Fibrinogen Inhibitoraktivatora plazminogena 1 (PAI-1) |
| Inflamacija | | <u>Adhezivni i hemoatraktantni molekuli</u> E selektin Intracelularni adhezioni molekul 1 (ICAM-1) Vazocelularni adhezioni molekul 1 (VCAM-1) Monocitni hemoatraktantni protein 1 (MCP-1) |
| Glatka mišićna ćelija (GMĆ) | <u>Antiproliferativni činioci</u> Azotni monoksid (NO) Prostaciklin Tranformišući faktor rasta β (TGF β) | <u>Proliferativni činioci</u> Trombocitni faktor rasta (PDGF) Angiotenzin II Endotelin I Reaktivne kiseonične vrste (ROS) Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) |

Tabela 4. Doprinosni činioci endotelne disfunkcije

| Faktor rizika |
|--|
| Godište |
| Hipertenzija |
| Pušenje |
| Dislipidemija |
| Gojaznost |
| Diabetes mellitus |
| Molekularni mehanizam |
| Samnjena bioraspoloživost azot monoksida (NO) |
| Oksidativni stres |
| Hiperhomocisteinemija |
| Asimetrični dimetilarginin (ADMA) |
| Angiotenzin II |
| Završni produkti neenzimske glikozilacije (AGEs) |

4.2. Endotelna disfunkcija u hroničnoj bubrežnoj bolesti

U svim stadijumima hronične bubrežne bolesti prisutna je *generalizovana endotelna disfunkcija* (ED) koja je posledica ćelijskog oštećenja vazotoksičnim supstancama i/ili metaboličkim supstratima koji nastaju zbog insulinske rezistencije, oksidativnog stesa i subkliničkog sistemskog zapaljenja niskog intenziteta.

Inflamacija, insulinska rezistencija i oksidativni stres se javljaju mnogo pre terminalnog stadijuma bolesti koji iziskuje primenu hemodijalize, a udruženim delovanjem doprinose generalizovanoj aterogenezi, kreiranju hiperkoagulabilnog protromboznog fenotipa, visokoj stopi KVB i mortaliteta u bolesnika sa HBB (78).

Sa druge strane ED je zajednički imenilac vaskularnog oštećenja u različitim kliničkim stanjima (sa povećanim kardiovaskularnim rizikom), pa tako i u HBB -

specifična intrarenalna endotelna disfunkcija takođe ima značajnu ulogu i u razvoju renalne patologije kao i u progresiji HBB.

4.2.1. Insulinska rezistencija

U HBB insulinska rezistencija (IR) se javlja pri JGF < 50 ml/min 1.73m² iako je vezivanje insulina za neizmenjene receptore i dalje fiziološko. Pojava insulinske rezistencije koja se ispoljava hiperglikemijom (smanjenom glukoznom tolerancijom) i smanjenjem iskorišćavanja glukoze u tkivima, izazvana je nagomilavanjem restvorljivog azotnog jedinjenja u HBB (insulinska rezistencija se može preneti uremijskim serumom, a takođe se smanjuje nakon hemodijalize), sa posledičnim porastom serumske koncentracije glukagona i masnih kiselina (79). Cirkušući činilac koji izaziva IR je najverovatnije peptid male MT, specifičan za uremiju, koji svoju aktivnost ostvaruje delovanjem na sintezu insulin-receptorskih proteina (80).

Insulinska rezistencija je stanje smanjene ćelijske osetljivosti na dejstvo insulina, a nastaje kao posledica stečenih ili genetskih činilaca koji oštećuju vezivanje insulina za ćelijski receptor. Insulin kao najjači anabolički hormon reguliše metabolizam šećera, masti, proteina, hormona rasta, diferencijaciju ćelija i endotela krvnih sudova. Usled pojačanih napora β-ćelija pankreasa da prevladaju IR u masnom i mišićnom tkivu i održe normalan nivo glikemije, nastaje kompenzatorna hiperinsulinemija. Međutim, pojačano lučenje insulina izaziva niz poremećaja u tkivima osetljivim na insulin. U metabolizmu ugljenih hidrata u IR (kod osoba koje nemaju HBB) izostaje inhibitorno dejstvo insulina na smanjenje glukoneogeneze u jetri i stimulišući učinak na iskorišćavanje glukoze u mišićima. Prvo se javlja postprandijalna hiperglikemija kao posledica nemogućnosti iskorišćavanja glukoze u mišićima i masnom tkivu, a potom i hiperglikemija našte kao posledica povećane glukoneogeneze u jetri. Razvojem IR stvoreni su uslovi za nastanak predijabetesa i dijabetes melitusa tip II -DMT 2 (81).

IR pripada centralna uloga u metaboličkom sindromu (MS). IR je u MS prisutna i uz fiziološku funkciju bubrega. Step en odlaganja glukoze (GDR-glucose disposal rate) negativno korelira sa nivoom serumskog kreatinina, a pozitivno sa klirenskom kreatinina. Inflamacija i oksidativni stress, prisutni u ranim stadijumima HBB doprinose razvoju IR prvenstveno pojačanom produkcijom proinflamatornih citokina (CRP, TNF_{α} , IL-6, IL-1 β). U blagoj ili umerenoj HBB, IR zajedno sa oksidativnim stresom i inflamacijom doprinosi razvoju albuminurije i progresiji bubrežne bolesti (82). IR je često zastupljenja u HBI i predstavlja nezavisni prediktor KV mortaliteta, pojačane potrošnje proteina i malnutricije u terminalnom stadijumu bubrežne bolesti (83, 84, 85). IR u HBB prisutna je najvećim delom “periferno” – pošto se u masnom tkivu deponuje manje od 2% glukoze, mišićno tkivo je primarni mesto manifestovanja IR u HBI. U uremiji IR nije posledica oštećenog vezivanja i iskorišćevanja insulina u jetri tako da hepaticna produkcija glukoze nije povišena i obično je u HBI suprimirana insulinom. U uznapredovaloj bubrežnoj bolesti IR ne mora da izaziva kompenzatorno povećanje insulinske sekrecije kao što je to slučaj kod osoba bez bubrežnog oštećenja, a kao potencijalni mehanizam odgovoran za ovu pojavu ističe se poremećaj signalnog mehanizma - insulinskog postreptorskog poremećaja na nivou IRS-1 (insulin receptor substrat) i signalnih kaskadnih postreptorskih molekula PI3-K-Akt (fosfo-inozitol 3-kinaza aktivnost) u HBB. Oslabljena funkcija IRS-PI3-K-Akt u HBB je udružena sa hroničnom inflamacijom, metaboličkom acidozom, osovinom vitamin D-paratireoidni hormon, anemijom, uremijskim toksinima i adipokinima. Mehanizam koji takođe dovodi do egzacerbacije/supresije IR je učinak proteina iz porodice SOCS (suppressors of cytokine signaling) na insulinski signalni put, a čija je ekspresija na monocitima i limfocitima u HBB i HBI povišena (što takođe izaziva povećanje serumske koncentracije IL-6, CRP, TNF_{α}). Adipocitokini - leptin i adiponektin, čiji je klirens u uremiji snižen (uz prateću gojaznost koja pojačava hiperadipokinemiju) i

rezistin (poreklom iz makrofaga lociranih u masnom tkivu) takođe mogu pojačati IR i proinflamatorno stanje u HBB (86).

Hiperglikemija uzrokovana IR dovodi do modifikovanja metabolizma endotelnih ćelija, aktivacije NADPH (nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat-oksida) i pojačane produkcije reaktivnih kiseoničnih vrsta, odnosno do endotelne disfunkcije i njenih kliničkih posledica identičnih dijabetes melitusu.

4.2.2. Oksidativni stres

Oksidativni stres predstavlja poremećaj fizioloških funkcija organizma nastao zbog hiperprodukcije prooksidanata-slobodnih radikala tj. reaktivnih kiseoničkih i azotnih vrsta (ROS-reactive oxygen species; RNS-reactive nitrogen species) koji prevazilazi antioksidativni kapacitet organizma sa posledičnim oštećenjem ćelijskih makromolekula proteina, lipida, ugljenih hidrata i DNK (Helmut Sies, 1985). Izvor oksidativnog stresa u HBB su uremijski niskomolekularni toksini (<3kDa) koji imaju prooksidantnu aktivnost. HBB je udružena sa oštećenom produkcijom endogenih antioksidanata i citoprotektivnih činilaca. Izmenjen je transkripcioni NF-E2 (Nuclear Factor Erythroid 2) p-45 »related« faktor 2 (Nrf2), koji vrši indukciju genskog šifrovanja brojnih antioksidanata, detoksikacionih enzima i proteina, kao što su katalaza (CAT) i superoksid dismutaza (SOD) (87). Za razliku od protektivne uloge u organizmu (infekcija, malignitet, obnavljanje tkiva), aktivacija oksidativnih mehanizama u HBB dovodi do vaskularnog oštećenja i ubrzanja procesa ateroskleroze. Intenzitet oksidativnog stresa raste sa progresijom bolesti (singnifikantna obrnuto proporcionalna korelacija sa JGF), a njegova jačina je proporcionalna sa visokom incidencom KVB u HBB (88). Oksidativne procese pojačavaju starije životno doba bolesnika, hipertenzija, dijabetes, restrikcije u ishrani (malnutricija, smanjen unos prirodnih antioksidanasa) i inflamacija »niskog intenziteta« (povećan broj leukocita i koncentracije CRP, IL-6, TNF, fibrinogena) u HBB, a dve

najznačajnije kliničke posledice su endotelna disfunkcija i hipertrofija leve srčane komore (LVH-left ventricular hypertrophy) (89).

Najvažniju ulogu u generaciji ROS ima endotelna NAD(P)H oksidaza, a dodatnu lipooksigenaza, ksantin oksidaza, neuparena (»uncoupled«) NOS i oštećeni mitohondrijalni enzimi (90). Oslobođanje jedne vrste ROS može lanočano dovesti do stvaranja drugih. ROS se stvaraju jednovalentnom redukcijom kiseonika (O_2). Nakon dejstva stimulusa, dolazi do aktivacije neutrofila i monocita/makrofaga sa povećanom potrošnjom O_2 (»respiratorna eksplozija«) (91). O_2 se redukuju u superoksid anjon (O_2^-) enzimskim delovanjem sistema NAD(P)H oksidaze. O_2^- potom biva konvertovan u vodonik peroksid (H_2O_2). Iako vrlo nestabilna, oba jedinjenja mogu biti prekursoru u stvaranju još potentnijih oksidanasa. Njihovo pojačano stvaranje inaktivirše i smanjuje bioraspoloživost NO. Takođe, oba jedinjenja (superoksid anjon i vodonik peroksid) mogu formirati peroksinitrit, koji pored toga što je citotoksičan, dovodi i do povećanja agregacije trombocita i do vazokonstrikcije. U reakciji O_2^- sa NO formiraju se visoko toksični derivati azota, dok se u reakciji H_2O_2 sa intracelularnim gvožđem formira hidroksil radikal (OH^-) (92). Toksični derivati azota i hidroksil radikali ispoljavaju ključnu ulogu u degradaciji lipida ćelijskih membrana, oštećenju proteina i DNK. Vodonik peroksid je takođe supstrat za formiranje hlorisanih oksidanata kao što je hipohlorna kiselina delovanjem leukocitne mijeloperoksidaze, koja je snažan oksidant lipida, proteoglikana i drugih intraćelijskih komponenti (88). U HBB se prisustvo primarnih oksidanata (superoksid anjon i vodonik peroksid) ne evidentira zbog njihove nepostojanosti, već akumulacijom produkata oksidativnih reakcija – proteina (direktno oksidisane aminokiseline) ili karbonilnih jedinjenja – uree, aldehida i ketona (93). Oksidacijom ireverzibilno neenzimski modifikovanih proteina formiraju se jedinjenja slična završnim produktima neenzimske glikozilacije-AGE (advanced glycation end products), takođe prisutnih u bolesnika sa DM,

a koji dovode do promene tkivnih struktura. Lipidnom peroksidacijom nastaju završni produkti lipooksidacije-ALE (advanced lipoxidation end products). Takođe dolazi do tzv. »karbonilnog stresa« nagomilavanjem reaktivnih karbonilnih jedinjenja-RCS (reactive carbonyl species), zbog neenzimske oksidacije ugljenih hidrata, lipida i posledične modifikacije proteina i nukleinskih kiselina. Akumulacija AGE, ALE i RCS doprinosi razvoju KV i drugih komplikacija u HBB (94, 95). Eksperimentalno je dokazana koegzistencija oksidativnog stresa i inflamacije. Oslobođeni zajedno sa proinflamatornim citokinima, angiotenzin II, AGE i ALE eksponencijalno povećavaju sintezu ROS, najvažnijeg uzročnika endotelne disfunkcije (96).

U prisustvu oksidativnog stresa olakšana je oksidacija molekula LDL koje difundovanjem u arterijalnu intimu izazivaju zapaljensku reakciju zida krvnog suda, indukuju ekspresiju leukocitnih adhezivnih molekula, posledično vezivanje cirkulišućih inflamatornih ćelija i njihovu migraciju u subendotelni prostor. Nastaju endotelna disfunkcija, agregacija trombocita, ekspresija metaloproteinaza i trombogenezisa. Sa napredovanjem akumulacije oksidisanog LDL, dolazi do fenotipske promene makrofaga u tzv. »penaste« ćelije. One su najvažnija komponenta tzv. masnih pruga koje predstavljaju prvi korak u formiranju ateromatoznog plaka. Penaste ćelije su takođe okidač produkcije antigena od strane T- limfocita koji iniciraju ili povećavaju imunološki odgovor (97).

4.2.3. Hronično sistemsko zapaljenje

Sistemsko, hronično zapaljenje niskog intenziteta u uremiji je rezultat kompleksnog sadejstva više činilaca i deo je biološkog odbrambenog odgovora organizma (vaskulature) na štetne stimulse u cilju njihove neutralizacije i započinjanja procesa tkivne reparacije. Dok akutna faza zapaljenja može imati povoljan učinak, hronično sistemsko zapaljenje niskog intenziteta u uremiji uvek ima štetan efekat.

Karakteriše ga višestuko povišena sistemska koncentracija pro- i anti-inflamatornih citokina i proteina akutne faze posebno u terminalnom stadijumu bolesti zbog smanjenog renalnog klirensa i pojačane tkivne produkcije. Doprinosni činioci su promene u rezidualnoj renalnoj funkciji (RRF), retencija AGE i prooksidanata, volumensko opterećenje, oštećena intestinalna barijera i prodor endotoksina, povećan tonus simpatikusa, peridontitis, gojaznost (adipociti i makrofagi infiltrisani u masno tkivo sekretuju adipokine, IL-6 i TNF_{α}), genetska i rasna predispozicija. Zapaljenje ima važnu ulogu u razvoju kliničkih simptoma i pratećih komplikacija bolesti kao i ulogu istaknutog faktora rizika povećanog morbiditeta i mortaliteta u HBI (98, 99, 100).

Solubilni citokini kao sekretovani polipeptidi diriguju zapaljenski odgovor autokrinim, parakrinim i endokrinim mehanizmima, dok su solubilni hemokini hemotaktični citokini koji kontrolišu privlačenje leukocita i mononuklearnih ćelija na mestu oštećenja. Ovi biomolekuli su klasifikovani kao pro- ili anti-inflamatorni i kao učesnici akutne ili hronične faze zapaljenja. Citokini imaju plejotropno dejstvo izraženo u »interaktivnim« kaskadama u kojima indukuju ili suprimiraju sopstvenu sintezu, ili sintezu drugih citokina i receptora. Značajna komponenta inflamatorne kaskade je nespecifični fiziološki odgovor akutne faze na produkciju citokina na mestu oštećenja, a sinteza proteina »pozitivne« i »negativne« akutne faze je ushodno ili nishodno regulisana u hepatocitima. Proteini akutne faze uključuju komponente komplemanta, antiproteaze i transportne proteine kao i koagulacione i fibrinolizne proteine. Za prisutni markere zapaljenja u HBB - CRP, fibrinogen, serum amiloid A protein (SAA), IL-6, porodica IL-1, IL-10, TNF_{α} , sTWEAK (soluble TNF-like weak inducer of apoptosis), TGF_{β} , HMGB1 (High mobility group box chromosomal protein-1), MPO (myeloperoxidase), endotoksin i solubilni CD14, u mnogim kliničkim ispitivanjima utvrđena je visoka povezanost sa KV morbiditetom i mortalitetom u svim stadijumima HBB (101).

Sistemska zapaljenja »niskog intenziteta« u uremijskom stanju je posledica udruženog delovanja perzistentne stimulacije imunološkog sistema, smanjenog (oštećenog) imunološkog odgovora i poremećene ravnoteže između citokina, što zajedno povećava rizik za KVB. Ubrzan proces ateroskleroze u HBI uključuje istovremeno prisustvo međusobno povezanih procesa - oksidativnog stresa, endotelne disfunkcije i vaskularne kalcifikacije u miljeu sistemskog zapaljenja niskog intenziteta, uz oštećenu funkciju neutrofila, T limfocita i poremećenog odnosa proinflamatornih (IL-6 i TNF_{α}) citokina i IL-10 koji ima antiinflamatorno dejstvo. Udruženim dejstvom TNF_{α} i IL-6 dovode do povećanja koncentracije reaktanata akutne faze, endotelne disfunkcije i oksidativnog stresa, adhezije monocita, proliferacije GMĆ, vaskularne kalcifikacije, pojačavanja insulinske rezistencije i produkcije adipocitokina, dok IL-10 ima obrnuto dejstvo (nishodna regulacija adhezivnih molekula i proinflamatornih citokina, inhibicija produkcije O_2^- i metaloproteinaza, inhibicija hemoataktičkih proteina) (102, 103). Na prisustvo endotelne disfunkcije i sistemskog zapaljenja niskog intenziteta u HBB ukazuju aktivacija trombocita, polimorfonuklearnih leukocita, povećana koncentracija medijatora i markera inflamacije (CRP, IL-6, TNF_{α} i fibrinogena) (104, 105).

Od svih proteina akutne faze i plazmatskih markera inflamacije, CRP je najzastupljeniji marker KV rizika. Hepatocitna produkcija CRP, kao i serumskog amiloida A (SAA) je odgovor na povećanje nivoa monocitnog IL-6 (izražena pozitivna linearna korelacija) u akutnoj fazi zapaljenja kao sistemski odgovor organizma na oštećenje tkiva različitim činiocima. U zavisnosti od jačine inflamatornog stimulusa vrednosti CRP (i SAA) mogu biti 500-1000 puta veće od normalne (1-3 mg/L), a poluživot od 19 h ga čini lakim za detekciju u cirkulaciji. Loše životne navike (fizička neaktivnost, gojaznost i pušenje) takođe dovode do povećanja vrednosti CRP. U Evropi kod bolesnika sa 3, 4 i 5

stadijumom HBB koji se ne dijaliziraju, vrednost CRP prosečno iznosi 7-8 mg/L (mediana 4-5 mg/L), dok je u SAD nešto viša, a u azijskim zemljama bitno niža (87, 106).

Drugi markeri zapaljenja, ceruloplazmin, haptoglobin i fibrinogen mogu biti uvećani 2-5 puta (107). Iako je koncentracija fibrinogena determinisana njegovom sintezom, metabolizam i eliminacija fibrinogena je snižena u HBI. Uloga bubrega, blage ili umerene HBB u eliminaciji i klirensu fibrinogena (kao i u eliminaciji D dimera) nije utvrđena (108). Kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom povišeni nivo CRP, IL-6, fibrinogena i solubilnih endotelnih adhezivnih molekula sVCAM-1, sICAM-1 i sE-selektina su snažni pozitivni prediktori mortaliteta (109). Suprotno pomenutim, koncentracije proteina - albumina i transferina («negativni reaktanti akutne faze») se snižavaju tokom inflamacije (87). Progresija bubrežne bolesti, intenziviranjem retencije mokraćne kiseline i uremijskih toksina, podstiče inflamaciju delujući na leukocite i produkciju IL-1b (leukocitni pirogen, lifocitni aktivirajući faktor) i IL-8 (leukociti i endotelne ćelije ga skladište u Weibel-Palade-ovim telima, posrednik odgovora urođenog imuniteta), stimulišući imunološki odgovor preko citotoksičnih killer T limfocita (CD8+) (110).

U dvosmernoj vezi između zapaljenskog procesa i hemostaznog sistema, upala dovodi do aktivacije hemostaze, koja povratno utiče na proces zapaljenja. Hemostazni sistem deluje u skladu sa uplanom kaskadom stvarajući zapaljensko-hemostazni cirkulus u kojem jedan aktivirani proces podstiče onaj drugi tako da oba sistema deluju u tzv. petlji pozitivne povratne sprege. Obimna unakrsna komunikacija između imunološkog i hemostaznog sistema odvija se na nivou svih komponenti hemostaze uključujući endotel, trombocite, plazmatske koagulacione činioce, fiziološke inhibitore i fibrinoliznu aktivnost. Centralnu ulogu u aktivaciji hemostaznog sistema imaju pro-inflamatorni citokini (TNF α , IL-1, IL-6) izazivajući disfunkciju endotelnih ćelija, povećanu reaktivnost trombocita,

aktivaciju koagulacione kaskade, smanjenje fiziološke funkcije inhibitora i supresiju fibrinolizne aktivnosti (111).

4.3. Oštećenje endotela uremijskim toksinima

Klinički znaci »uremijskog sindroma« posledica su akumulacije toksičnih supstanci koje se kod zdravih eliminišu urinom. Uremijski toksini u HBI nastaju zbog redukcije glomerularne filtracije i oštećenog bubrežnog metabolizma, ili pripadaju različitim jedinjenjima koja nastaju tokom metabolizma u drugim ćelijama i organima (112).

European Uremic Toxin (EUTox) Work Group je na osnovu 85 ispitivanja obavljenih od 1962 do 2002 (obuhvaćeno preko 500 000 bolesnika) definisala jedinjenja za koja se pretpostavlja ili koja imaju dokazanu biološku aktivnost u terminalnoj fazi bubrežne bolesti. Heterogenost ovih jedinjenja (rastvorljivost u vodi, kapacitet vezivanja proteina, molekulska masa, mogućnost otkaljanja dijalizom, biološke osobine i potencijal izazivanja kliničkih simptoma, molarna koncentracija itd) komplikuje njihovu klasifikaciju. Najčešće pominjana je EUTox klasifikacija uremijskih jedinjenja u 3 grupe na osnovu MT (molekulska težina), kapaciteta vezivanja proteina i mogućnosti otkaljanja putem dijalize:

1. Uremijski toksini rastvorljivi u vodi, niske MT (<500 Da) lako se otklanjaju tokom dijalize. Organska jedinjenja iz ove grupe se nalaze u slobodnoj, u vodi rastvorljivoj formi ili vezana za plazmatske proteine. Od 90 identifikovanih molekula, 68 pripada ovoj grupi. Najčešći su: ADMA (asymetric dimethylarginine), kreatin, kreatinin, hijluronska kiselina, gvanidin, gvanidinoacetat, gvanidinosukcinat, oksalat, SDMA (symetric dimethylarginine), urea i mokraćna kiselina.

2. Rastvorljiva jedinjenja vezana za proteine, njih 25 (27.8% od svih uremijskih jedinjenja). Iako je MT većine ovih jedinjenja <500 Da, ona se teško uklanjaju dijalizom (zbog vezanog proteina). Među njima se ističu završni produkti neenzimske glikolizacije (AGE), karboksi-metil-propil-furanopropionska kiselina, TNF_{α} , dimetilgvanidini, hipurična kiselina, homocistein, indol-3-sirćetna kiselina, indoksil glukuronid, indoksil sulfat (IS), kinurenična kiselina, kinurenin, leptin, fenolna jedinjenja, *p*-kresil sulfat (*p*-CS), *p*-kresil glukuronid, fenol sulfat, fenol glukuronid, fenilsirćetna kiselina, kvinolinska kiselina i retinol-vezujući protein.

3. Molekule srednje MT, oko 500 Da. Ovoj grupi pripada više od 50 jedinjenja za koje je utvrđeno da imaju uzorčno-posledičan odnos sa poreklom i razvojem mnogih patoloških procesa. Ovoj grupi pripadaju adiponektin, cistatin C, leptin, motilin, α 1-kiseli glikoprotein, α 1-mikroglobulin, endotelin, grelin, osteokalcin, atrijalni natriuretični peptid, prolaktin, retinol-vezujući peptid, prolaktin, β 2-mikroglobulin, holecistokinin i vazoaktivni intestinalni peptid.

EUTox klasifikacija ne određuje toksičnost pomenutih jedinjenja (do sada nije utvrđena efikasna metoda određivanja toksičnosti), već ističe da bi preciznija klasifikacija trebala da uzme u obzi sličnost hemijske strukture, zajedničku biološku ili organsku funkciju, tj. metabolički izvor i mesto anatomskog (organskog) porekla. Po sličnost hemijske strukture sva jedinjenja pripadaju jednoj od grupa: purinski, pirimidinski derivati, metil-amin derivati, fenil-derivati i derivati indola (112, 113).

Retencijom, toksična uremijska jedinjenja oštećuju endoteleske ćelije i učestvuju u mnogobrojnim mehanizmima endotelijalne disfunkcije: 1. procesu ateroskleroze i aktivacije leukocita (derivati gvanidina, AGE, *p*-CS, trombocitni diadenozin polifosfati, IS), endotelnoj adheziji (IS, VCAM-1), migraciji i proliferaciji vaskularnih GMĆ (IS, AGE), trombozi i desatabilizaciji ateromatoznog plaka (vWF, trombomodulin, PAI-1, matriks

metaloproteinaze), sniženju raspoloživog NO (ADMA, AGE, CEM-cirkulatorne endotelne mikropartikule); 2.povećanju rigidnosti krvnog suda zbog gubitka elastičnosti-komplianse (ADMA, AGE); 3.vaskularnoj kalcifikaciji (neorganski fosfat, ROS, TNF α , leptin); 4. oštećenju vaskularne reparacije (IS, pojedina gvanidinska jedinjenja) (114).

Hroničnom ekspozicijom uremijskim toksinima endotelna disfunkcija se pogoršava, konstituise se tzv. „protrombotski fenotip“. Narušavaju se antikoagulantna, antiagregaciona i profibrinolitička uloga endotela, a uspostavlja prokoagulantna, proagregaciona i snižena fibrinolizna aktivnost. Dolazi do suprimiranja aktivnosti eNOS, pojačanog oslobađanja VWF i PAI-1, redukovanja t-PA i naglašene ekspresije TF koji započinje aktivaciju tzv. spoljašnjeg puta koagulacije. Kreiraju se uslovi depozicije fibina u zidu krvnog sud i stvara se protrombogeni i proaterogeni milje, uz pojačanu aktivaciju trombocita i leukocita pojačanom ekspresijom adhezionih molekula (VCAM-1) i citokina (MCP-1, monocitni hemoatraktantni protein- 1) (43).

Endotelnoj disfunkciji doprinose i patofiziološki mehanizmi bolesti najčešćih etioloških činilaca HBB: hipertenzija (aktivacijom renin-angiotenzin-aldosteron-sistema), DM (dijabetesnom insulinskom rezistencijom i dislipidemijom), hronično sistemsko zapaljenje, sekundarni hiperparatireoidizam i hiperhomocisteinemija.

4.4.Hipertenzija i oštećenje endotela u HBB

Hipertenzija je jedan od najvažnijih etioloških faktora HBB, mada uzročno-posledična veza može ići i u obrnutom smeru, tako da već početna oštećenja bubrežne funkcije mogu dovesti do pojave hipertenzije. Smatra se da je retencija Na⁺ i aktivacija renin-angiotenzin sistema najvažniji mehanizam porasta krvnog pritiska kod bubrežnih bolesnika. Aktivacija simpatikusa u progresiji hipertenzije takođe ima značajnu ulogu. Različiti oblici hipertenzije manifestuju se smanjenom sintezom i slabijim učinkom

endotelnih vazodilatatornih činilaca ili receptorskom rezistencijom i/ili hiperprodukcijom ili hipersenzitivnošću receptora na vazokonstriktore (64).

Hipertenzija dovodi do snižene ekspresije eNOS već u početnim stadijumima HBB. Aktivacijom sistema renin-angiotenzin, povećan oksidativni stres u hipertenzivnim stanjima smanjuje raspoloživost NO. Povećan nivo angiotenzina II, koji delovanjem preko receptora AT₁, stimuliše NAD(P)H-oksidadu i generisanje reaktivnih kiseoničkih vrsta (ROS), dovodi do inflamacije (pojačana sinteza inflamatornih medijatora – citokina, hemokina, adhezionih molekula i PAI-1). Pojačana produkcija ROS takođe umanjuje raspoloživost NO direktno ili razlaganjem tetrahidrobiopterina (BH₄), kofaktora u sintezi NO. Rezultat procesa je endotelna disfunkcija, vaskularni remodeling i progresija ateroskleroze.

Pojačana aktivnost sistema renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS), simpatikusa i plazmatskih kateholamina (adrenalina, noradrenalina, dopamina) takođe oštećuje endotel - smanjena je aktivnost renalaze (pripada grupi oksidaza i za razliku od drugih oksidaza nalazi se u plazmi i urinu zdravih osoba, ali ne i kod uremičara), specifičnog tkivnog bubrežnog enzima, koji inaktiviše dejstvo kateholamina, potentnih vazoaktivnih stimulatora (sledećim redom: dopamin→epinefrin→norepinefrin), čime se održava povišen tonus simpatikusa uz sledstvenu hipertenziju u HBB (115).

Na prevenciji ovih mehanizama i potenciranju vazorelaksacije, zasniva se i farmakološki učinak inhibitora angiotenzin konvertujućeg enzima (ACEI) i blokatora angiotenzin receptora (ARB). U genezu esencijalne hipertenzije uključeni su i drugi mehanizmi – endotelni prostanoidi (prostaglandini, tromboksani i prostaciklini) koji imaju uticaj na povećanje vaskularnog tonusa i razvoja nefroangioskleroze (arteriolopatija srednjih i malih arterija zbog intimalne hiperplazije, hijalinoze i hipertrofije GMC). Hiperprodukcija ET-1 takođe može dovesti do hipertenzije, posebno pulmonalne (116).

Mada hipertenzija predstavlja kliničko stanje u kome je potvrđeno oštećenje endotela, još uvek je nejasno da li je hipertenzija posledica ili uzročnik endotelne disfunkcije. Tvrdnje da je endotelna disfunkcija posledica hipertenzije (Moncada, Vane, 1978) demantuje upotreba β -blokatora koji snižavanjem pritiska ne dovode do uspostavljanja endotelne disfunkcije, za razliku od upotrebe ACEI i ARB, koji je signifikantno poboljšavaju (117).

4.5. Dijabetes melitus tip 2, dijabetesna nefropatija i oštećenje endotela u

HBB

Dijabetesna nefropatija istovremeno predstavlja jednu od najvažnijih mikrovaskularnih komplikacija DMT2 i vodeći etiološki uzročnik HBI. Najvažniji mehanizmi endotelne disfunkcija u DMT2 su hiperglikemija, hiperinsulinemija, insulinska rezistencija, dislipidemija, inflamacija i oksidativni stress (118).

4.5.1. Hiperglikemija

Hiperglikemija oštećuje endotel različitim mehanizmima aktivacije poliolskog puta i stvaranjem sorbitola, pojačanom produkcijom AGE i ekspresijom RAGE (receptor for advanced glycation end products), aktivisanjem različitih izoformi protein kinaze C (PKC) i aktivacijom heksozaminskog puta. Pomenuti mehanizmi udruženo dovode do oksidativnog stresa kojim se produbljuje endotelna disfunkcija i nastavlja vaskularno oštećenje (119).

Zbog nemogućnosti potpunog metabolisanja glikoze aerobnom glikolizom, dolazi do aktivacije alternativnih mehanizama – tzv. poliolskog puta čime se povećava sinteza toksičnog sorbitola (povećava osmotsku aktivnost). Istovremenom oksidacijom NAD(P)H i redukcijom NAD⁺ (nicotinamid adenine dinucleotid) dolazi do redoks dizbalansa, smanjenja biorasploživosti NO i pojačavanja oksidativnog stresa (120).

AGE kao ireverzibilni završni produkti neenzimske glikozilacije proteina u uslovima hronične hiperglikemije predstavljaju glikotoksine koji reagovanjem sa intraćelijskim strukturama, ekstraćelijskim matriksom i cirkulišućim proteinima, menjaju njihovu strukturu i funkciju. Vezujući se za RAGE na endotelu, monocitima, makrofazima GMC, izazivaju oksidativni stres i proinflamatorni odgovor (121). Zbog hiperglikemijske glikozilacije LDL čestica, konformacijskih promena i otežanog vezivanja za LDL receptore, stvaraju se AGE-LDL sa proinflamatornim i proaterogenim karakteristikama (122).

Intraćelijskom sintezom diacil-glicerola u hiperglikemiji se aktivira PKC koja dovodi do disbalansa NO/ET-1. Nastaju vazodilatacija, povećanje vaskularne permeabilnosti, povećanje sinteze kolagena tip IV, fibronektina i PAI-1, aktivacija NF- κ B i povećana proinflamatorna genska ekspresija (123).

Pomenuti mehanizmi dovode do oksidativnog stresa i povećane produkcije superoksid anjona O_2^- , koji zauzvrat povećava produkciju AGE i heksozamina, aktivira PKC, poliolni put (sorbitol) i NF- κ B. Stvaraju se uslovi za produkciju proinflamatornih citokina (IL- 1β , TNF- α), ekspresiju adhezivnih molekula (E-selektin, ICAM-1, VCAM-1), i ET-1, što zauzvrat generiše još više ovog slobodnog radikala (124).

Hiperglikemija smanjuje koncentraciju NO povećavajući produkciju ROS (superoxid anjona O_2^-). O_2^- se uz pomoć enzima SOD pretvara u H_2O_2 (vodonik peroksid) koji u interakciji sa NO stvara reaktivni oksid peroksinitrit ($ONOO^-$), koji lako prodire u ćeliju i indukuje ćelijsko oštećenje putem lipidne peroksidacije i inaktivacije enzima i proteina oksidacijom i nitracijom. Peroksinitrit u interakciji sa mitohondrijama indukuje oslobađanje proapoptičkih činilaca, citohroma c i apoptotskog indukujućeg faktora (125). Disbalans između biorasploživosti NO i akumulacije ROS, vodi nastanku endotelne disfunkcije i smatra se snažnim prediktorom kardiovaskularnih komplikacija (126).

Za razliku od *mikrovaskularnih komplikacija* gde hiperglikemija ima dominantnu ulogu, u patogenezi *makrovaskularnih komplikacija* pored hiperglikemije vrlo značajnu ulogu imaju insulinska rezistencija, inflamacija i dislipidemija (127).

4.5.2. Dislipidemija

Dislipidemija u HBB je posledica poremećenog metabolizma svih klasa lipoproteina, čije varijacije zavise od stadijuma i etiologije bubrežne bolesti, prisustva nefrotskog sindroma (NS) i vrste dijaliznog tretmana (128). Nastaje zbog značajnog oštećenja enzima ili receptora koji učestvuju u metabolizmu lipoproteina, a najčešće se ispoljava prisustvom mešovite dislipidemije - hipertrigliceridemije i sniženih vrednosti HDL holesterola (high-density lipoproteins, HDL). Kombinovana sa inflamacijom i oksidativnim stresom, dislipidemija doprinosi ispoljavanju “aterogene dijateze” i KVB, napretku bubrežne bolesti i energetsom deficitu u HBB.

U Tabeli 5. su prikazani mehanizmi dislipoproteinemije u HBB.

Tabela 5. *Mehanizmi dislipoproteinemije u HBB (129)*

| Protein | Promena | Učinak na plazmatske lipide/lipoproteine |
|-------------------|---------|--|
| apoA-1 | ↓ | ↓ HDL |
| LHAT | ↓ | ↓ HDL-h, HDL-2/HDL-3 |
| HETP | ↑ | ↓ HDL-h |
| AHAT | ↑ | ↑ VLDL-h, ↓ HDL-h |
| LPL | ↓ | ↑ Trig (↑ delipidacija VLDL i HM) |
| VLDL receptor | ↓ | ↑ VLDL, Trig |
| jetrena lipaza | ↓ | ↑ IDL, HM ostaci, HDL-Tg, Trig, LDL-Tg |
| LRP | ↓ | ↑ IDL, HM ostaci |
| apoCII/CIII odnos | ↓ | ↑ Trig (↑ LPL aktivnost) |
| pre-β HDL | ↑ | ↑ Trig (↑ LPL aktivnost) |

Legenda: ↓ = sniženje; ↑ = povećanje; AHAT = acil-CoA (acil holesterol) transferaza; Apo = apoprotein; HETP = holesterol estar transferaza protein; HM = hilomikron; DGAT = acil-CoA diglicerol acil transferaza; HDL = lipoprotein visoke gustine; HDL-h = lipoprotein visoke gustine - holesterol; HDL-Tg = lipoprotein visoke gustine – triglicerid; IDL = lipoprotein srednje gustine; LHAT = lecitin holesterol acil transferaza; LDL-Tg = lipoprotein niske gustine- triglicerid; LP = lipoproteini; LPL = lipoprotein lipaza; LRP = lipoprotein niske gustine receptorski protein; Trig = trigliceridi; VLDL = lipoprotein vrlo niske gustine; VLDL-h = lipoprotein vrlo niske gustine - holesterol; VLDL-Tg = lipoprotein vrlo niske gustine – triglicerid.

Hipertrigliceridemija je najčešći kvantitativni lipidni poremećaj u HBB, a vrednosti lipoproteina bogatih trigliceridima (VLDL, hilomikrona i njihovi ostataka) progresivno rastu sa napretkom bolesti. Predominantni mehanizmi nastanka hipertrigliceridemije su smanjen katabolizam, zbog snižene aktivnost lipoproteinske lipase (LPL) [zbog nishodne regulacije enzimskog gena (130), prisustva inhibitora LPL (131), narušenog odnosa aktivatora LPL ApoC-II/ i inhibitora LPL ApoC-III u uremiji (132)], pojačana jetrena produkcija lipoproteina bogatih trigliceridima (VLDL) zbog insulinske rezistencije prisutne u HBB (133, 134), akumulacija VLDL i IDL u nefrotskoj proteinuriji (135) zbog hiperprodukcije i sniženog klirensa VLDL (136), koji je posledica snižene ekspresije gena endotelske LPL i hepatičke LPL koje učestvuju u delipidaciji lipoproteina bogatih trigliceridima (137), dok hipoalbuminemija i proteinurija u NS dodatno snižavaju učinak LPL remećenjem vezivanja enzima za endotel i promenom sastava VLDL (čime se smanjuje prikladnost substrata za enzimsko delovanje LPL) (138).

U HBI plazmatske vrednosti ukupnog holesterola su normalne ili snižene, a povremeno i povišene. Značajan faktor koji određuje nivo lipoproteina bogatih holesterolom uz oštećenu bubrežnu funkciju je i jačina proteinurije. Sama HBB u odsustvu proteinurije ne remeti značajno ekspresiju gena HMG-CoA reduktaze (hidroksi-3-metil-glutaril-CoA reduktaza), enzima koji određuje stepen biosinteze holesterola, niti gena holestrol 7 α -hidroksilaze, enzima zaduženog za katabolizam i konverziju holesterola, kao ni receptorsko preuzimanja LDL holesterola tj. genske ekspresije LDL receptora (139). Međutim u proteinuriji se javlja stečeni deficit LDL receptora (zbog poremećene translacije, smanjenog proteinskog prometa ili konfirmacionih promena apoB LDL-a), koji redukuje receptorski katabolizam LDL holesterola i povećava njegov plazmatski nivo u nefrotskoj dislipidemiji (140). Dodatno u NS, ushodna regulacija gena enzima ACAT (acetil-koenzim A holesterol acil transferaze), zaduženog za esterifikaciju holesterola u

hepatocitu, može smanjiti sadržaj slobodnog holesterola u jetri, čime dolazi do poremećaja ključnih enzima zaduženih za homeostazu holesterola (141). U HBB (sa ili bez proteinurije), dolazi do kvalitativne promene metabolizma LDL – povišena je koncentracija LDL čestica male gustine, koje lako penetriraju u zid krvnog suda i koje oksidacijom postaju visoko aterogene.

Takođe, u HBB dolazi do povećanja nivoa Lp(a) koji sadrži apolipoprotein(a), homologa plazminogena. Inhibitornim delovanjem Lp(a) na fibrinolizu se objašnjava njegova trombogena sposobnost. Prisutne su dve izoforme Lp(a) – niskomolekularna, LMW apo(a) i visokomolekularna, HMW apo(a), pri čemu su prospektivna ispitivanja povrdila da LMW apo(a), a ne ukupni nivo Lp(a), predstavlja nezavisni prediktorni činičac ukupnog i KV mortaliteta u bolesnika sa HBB (142).

Sníženje plazmatskih vrednosti HDL holesterola u HBB (129) dolazi zbog sníženja (Apo)A-I i ApoA-II (najvažnijih proteinski konstituenata HDL), smanjene genske ekspresije pomenutih apoproteina na mestima jetrene sinteze HDL, a doprinosni činičac je i sistemsko zapaljenje niskog intenziteta koje dovodi do smanjenja nivoa albumina - nosača slobodnog holesterola iz perifernih tkiva ka jetri (ekskreciji) (143), zatim zbog smanjene aktivnosti LCAT (enzima zaduženog za esterifikaciju slobodnog holesterola u HDL čestici) i zbog povišene aktivnosti CETP (holesterol estar transfer proteina) koji olakšava transfer holesterolskih estara HDLa ka lipoproteinima bogatih trigliceridima. HDL čestice kod bubrežnih bolesnika imaju smanjen antioksidativni i antiinflamatorni kapacitet, a što se delimično objašnjava smanjenom aktivnošću HDL-udruženih enzima (npr. paraoksonaza, enzima koji inhibiše oksidaciju LDL) (144).

U terminalnoj fazi bolesti povišena koncentracija serumskih triglicerida, VLDL, IDL, hilomikronskih ostataka i oksidisanih lipoproteina, je obično praćena sníženjem ApoA-1 i HDL-holesterola, niskim ili normalnim koncentracijama ukupnog holesterola i

LDL-holesterola. LDL-holesterol se kod ovih bolesnika sastoji od visoko aterogenih partikula niske gustine - rezudalnih triglicerida. Međutim, zbog genskog ili nekogog drugog uzroka, manji broj ovih bolesnika može imati povišen HDL i/ili LDL holesterol.

Mehanizam poremećaja lipida i lipoproteina zasnovan je na poremećenim procesima maturacije nascentnog VLDL i hilomikrona, lipolize njihovog trigliceridnog jezgra, konverzije IDL u LDL i odstranjivanju hilomikronskih ostataka u jetri, a koji su prisutni u HBB (145).

Uloga dislipidemije u patofiziologiji ateroskleroze u bolesnika sa oštećenom bubrežnom funkcijom je kontroverzna jer su pojedina ispitivanja pokazala prisustvo pozitivne korelacije između vrednosti holesterola i rizika za KVB, dok kod drugih korelacija nije dokazana. Neke studije su ukazale na inverzan odnos vrednosti holesterola i mortaliteta u HBI (fenomen »obrnute epidemiologije«) objašnjavajući fenomen prisutnim zapaljenjem ili negativnim energetske bilansom u HBB koji dovode do konfaundiranja između prolaznih i trajnih faktora rizika za KVB u odnosu na mortalitet u bolesničkoj populaciji. Drugim rečima, bolesnici u terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji bez ovih komplikacija (zapaljenja i malnutricije) ponašaju se kao i individue sa očuvanom bubrežnom funkcijom, pošto u prisustvu ovih stanja, niže vrednosti ukupnog i LDL holesterola (a ne više vrednosti) predstavljaju veći rizik. U saglasnosti sa ovom pretpostavkom statističkim isključivanjem »confounding«-a (markera inflamacije i malnutricije) potvrđena je pozitivna udruženost vrednosti serumskog holesterola i mortaliteta u HBB (146). Odsustvo signifikantne uloge nivoa holesterola *per se* kao uzročnika ateroskrelotskih KVB je pokazana u randomiziranim kliničkim ispitivanjima neuspelog učinka statina u snižavanju KVB u hemodijaliziranih (HD) bolesnika. Udruženost niskih vrednosti holesterola sa visokim mortalitetom kod ovih bolesnika je bez sumnje u vezi sa sistemskom inflamacijom koja snižava nivo holesterola – stanja koja

pojačavaju priliv ili snižavaju gubitak holesterola iz makrofaga mogu uticati na proces ateroskleroze i KVB nezavisno od plazmatskih vrednosti holesterola. U HBB priliv holesterola u makrofage je olakšan oksidacijom hilomikronskih ostataka, IDL i LDL, kao i oštećenom antioksidantnom i antiinflamatornom ulogom HDL. Proces je dodatno komplikovan oštećenim reverznim holesterolskim transportom posredovanim HDL-om zbog oksidacije apoA-1 (ometta vezivanje HDL za ABCA1 – »ulazna vrata« holesterolskog priliva), deficitom LCAT (ograničava »noseći« kapacitet HDL za holesterol) i ushodnom regulacijom ACAT (olakšava retenciju holesterolskih estara u arterijski zid). Pomenute abnormalnosti dovode do napredovanja aterogenog procesa u HBB nezavisno od plazmatskog nivoa holesterola (145).

Ekspozicija endotelnih ćelija oksidovanom LDL *in vitro* dovodi do oslobađanja različitih sloubilnih adhezivnih molekula (markera oštećenja endotelnih ćelija): VCAM, ICAM, MCP-1, selektina, vWF i trombomodulina. Dolazi do povećane ekspresije i produkcije TF i PAI-1, što stvara protrombogeni i proaterogeni milje i uslove za aktivaciju trombocita i leukocita (147).

Pored KVB, dislipidemija igra važnu ulogu u patogenezi oksidativnog stresa, zapaljenja, progresije HBB, smanjenju fizičkih kapaciteta, malnutricije i kaheksije bubrežnih bolesnika.

4.5.3. Mikroalbuminurija

Mikroalbuminurija predstavlja faktor rizika (ujedno pristupačan i senzitivian marker) za bubrežne i KV bolesti (148, 149). Iako svi mehanizmi koji ih povezuju nisu do kraja objašnjeni, mikroalbuminurija reflektuje generalizovanu ED (150). Albumin je najvažniji konstitutent eksretovanih urinarnih proteina. Vrednost albumina u urinu ≥ 30 -300 mg/24h definiše se kao mikroalbuminurija, a nivo ≥ 300 mg/24h kao makroalbuminurija.

Prevalenca mikroalbuminurije u DM iznosi 20-40% (151, 152), u esencijalnoj hipertenziji 23 % (153), a u opštoj populaciji 5-8% (154), što ukazuje da je među zdravim osobama prisutna znatna varijabilnost urinarne ekskrecije albumina bez prisustva kliničkih znakova bolesti, čineći mikroalbuminuriju značajnim integrisanim markerom KV rizika i mortaliteta u opštoj populaciji (155), kod hipertoničara (156) i DMT1 i DMT2 (157, 158).

Povećana propustljivost glomerula za albumin i sledstvena mikroalbuminurija često je udružena sa povećanom propustljivošću sistemske vaskulature za albumin, kao odraz sistemske ED kod dijabetičara, hipertoničara i zdravih ispitanika (159, 160), što je svrstalo bubreg u organ čija funkcija reflektuje generalizovano oštećenje krvnih sudova. Kod bolesnika sa DM i mikroalbuminurijom, endotelno zavisna dilatacija perifernih arterija je smanjena kao i dilatacija brahijalne arterije posredovane krvnim protokom (161), a što se objašnjava sniženjem nivoa NO i oksidativnim stresom koji je pojačan i posledičnom hiperhomocisteinemijom. Povećanje plazmatskih koncentracija inflamatornih i prokoagulantnih markera u prisustvu mikroalbuminurije ukazuje da je povišena urinarna ekskrecija albumina udružena sa generalizovanom aktivacijom endotela i inflamacijom niskog intenziteta u bolesnika sa DM - povišena je koncentracija vWF, markera oksidativnog stresa, PAI-1, FVII, solubilnih adhezivnih molekula ICAM-1, VCAM-1 i E-selektina (162).

U nefrotskom sindromu (proteinurija $>3.5\text{g}/1.73\text{m}^2/24\text{h}$) intenzitet hiperkoagulabilnosti i rizik od tromboze su u korelaciji sa stepenom gubitka inhibitora hemostaznog sistema, pojačanom sintezom hemostaznih stimulusa ili njihovom lokalnom aktivacijom u glomerulu. Stečeni deficit antitrombina u NS proporcionalan je gubitku albumina (zbog slične molekulske mase), prisutan je u 40-80% bolesnika, a javlja se ako je vrednost serumskog albumina $\leq 20\text{ g/L}$. U pojedinim ispitivanjima, u nefrotskom sindromu je ustanovljena klinička korelacija između jačine deficita AT i rizika za nastanak VTE.

Sniženje nivoa proteina S, proteina C i izmenjene vrednosti TFPI u NS su manje značajni (163, 164). Urinom se takode gube FIX, FXI i FXII, do su koncentracije prokoagulantnih faktora FII, FV, FVII, FVIII, FX i FXIII povišene. Koncentracije navedenih FK koreliraju sa stepenom sniženja serumskog albumina (165).

5. TROMBOCITI U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Hiperaktivnost ili oštećena funkcionalnost trombocita, zajedno sa drugim komponentama hemostaznog sistema čija je interakcija u uremijskom metaboličkom miljeu poremećena, igra važnu ulogu u ispoljavanju poremećaja koagulacije doprinoseći hiperkoagulabilnom stanju i/ ili pojavi krvarenja i pratećim kliničkim komplikacijama u HBB. Stečeni poremećaj funkcije trombocita u uremiji je kompleksan, a oštećena adhezija, agregacija, sekrecija, signalna transdukcija i prokoagulantna aktivnost, dovode do promena brojnih procesa u funkcionalnosti hemostaznog sistema u kojima oni učestvuju.

Aktivacija trombocita merena povišenom koncentracijom P-selektina oslobođenim iz trombocitnih α granula (CD62p), pojačanom ekspresijom vWF receptora (CD42b) i receptora za fibrinogen (CD41a), karakterše početne i umerene stadijume bubrežne bolesti, a može se dovesti u vezu sa pratećom inflamacijom, poremećenom funkcijom endotela i sniženim serumskim albuminom (166).

Pogoršanje bubrežne funkcije praćeno je daljim rastom wWF i solubilnog P-selektina. U fiziološkim uslovima, P-selektin lokalizovan na unutrašnjem zidu α granula, se nakon stimulacije agonistom, membranskog “flippinga” i oslobađanja sadržaja α i gustih granula, oslobađa i doprinosi vezivanju fibrina i formiranju trombocitnog tromba. Pored uloge u stimulaciji agregacije trombocita na mestu vaskularne povrede, P-selektin učestvuje i u mobilizaciji leukocita u okviru antiinflamatornog odgovora i formiranju trombocitno/leukocitnih agregata, oslobađanju slobodnih radikala iz neutrofilnih granulocita i generisanju tromba (167). U HBB je nivo fosfatidilserina (PS) na trombocitnoj površini povišen uz aktivaciju enzima kapaze-3 (stimuliše ekspoziciju PS nakon aktivacije trombocita, oslobađanje mikropartikula i cepanje moezina). Vezivanjem PS za aktivisani FV stimuliše se stvaranje FXa, trombina i formiranje tromba (168).

Povišen nivo cirkulišućih mikropartikula (MP), veličine od 0.1 do 2 μ m, trombocitnog (endotelskog ili monocito/makrofagnog) porekla, pretežno fosfolipidskog i proteinskog sastava, predstavlja jedan oblik celularne disfunkcije koji doprinosi vaskularnom oštećenju i hiperkoagulabilnosti u HBI, posebno kada je udružen sa dijabetesom, antifosfolipidnim sindromom ili akutnim koronarnim sindromom i KVB (169). MP nastaju aktivacijom ćelija tokom zapaljenja (i fiziološke diferencijacije i starenja). Prokoagulantni efekat MP potiče od PS, od prisustva TF membranskog porekla na njenoj površini i oslobođanog solubilnog (s)TF (170). Drugi mehanizam koagulacione stimulacije MP ostvaruju posredstvom mikroRNK (miRNA), nekodirane jednostruke RNK koja utiče na promenu ekspresije ciljnog gena preko transkripcione i post-transkripcione modulacije. Iako uticaj miRNA na hemostazni sistem nije do kraja razjašnjen, utvrđeno je da je ekspresija P2Y₁₂ receptora, najvažnijeg za aktivaciju GP IIb/IIIa nakon stimulacije ADP-om, regulisana posredstvom solubilne miRNA (171, 172). U hiperreaktivnim trombocitima povišen je i endobrevin - protein udružen sa vezikulama-VAMP8 (vesicle-associated membrane protein 8), dok je u hipoaktivnim trombocitima smanjenje VAMP8 praćeno (neobjašnjenim) višestrukim povećanjem miRNA96 u HBB (173). Kontakt trombocita sa uremijskim toksinima može izazvati promenu trombocitnog proteoma zbog oštećene transkripcije, na čega ukazuju izmenjene i trombocitna mRNK i transkriptivna miRNK (174).

U bolesnika sa HBI mogu se javiti i trombocitoza i trombocitopenija. **Relativna trombocitoza** (broj trombocita >300 x 10⁹/L) je povezana sa povećanom smrtnošću bez obzira na uzrok i smrtnošću od KVB udruženih sa malnutricia-inflamacija-kaheksija sindromom (MICS) (175). Relativna trombocitoza povezana je sa težinom KVB u HBI, može biti prisutna i u bolesnika na peritonelanoj dijalizi - PD (signifikantno korelira sa

koronarnom i perifernom arterijskom bolešću) i HD (udružena sa povećanom stopom smrtnosti) i povezana sa sniženjem rezervi gvožđa u organizmu (176, 177).

Povećanom riziku za nastanak VTE u nefrotskom sindromu doprinose trombocitoza, hiperagregabilnost trombocita, pojačana interakcija trombocita i endotela, povišene vrednosti P-selektina i vWF. Hiperagregabilnost trombocita nastaje zbog hipoalbuminemije, hiperholesterolemije (hiper LDL) i hiperfibrinogenemije. Hipoalbuminemija dovodi do pojačane raspoloživosti arahidonske kiseline endotelnog porekla (iz oštećenih EĆ), koju konvertuju trombociti svojom ciklooksigenazom u TXA₂. Višak TXA₂ stimuliše agregaciju trombocita (178, 164).

Napretkom bubrežne insuficijencije razvija se **stečena trombocitopatija** uz oštećenje strukture i svih funkcija i posledičnom krvarećom dijatezom koja se pridodaje postojećem hiperkoagulabilnom, protrombotičkom stanju. Produženo vreme krvarenja i krvareće komplikacije u uremiji objašnjavaju se brojnim anomalijama trombocitnih funkcija (oštećena adhezija i agregacija), kompromitovanom interakcijom trombocita i endotela, anemijom, azotemijom (nagomilavanje „middle molecules“), pojačanom sintezom NO, hiperparatireoidizmom (povećan PTH deluje kao uremijski toksin), korišćenjem lekova i HD.

Umerena **trombocitopenija** je česta u HBI (prisutna je u 16-55% bolesnika), ali je broj trombocita retko manji od $80 \times 10^9/L$, odnosno broja koji je dovoljan za normalno funkcionisanje hemostaze. Smanjenje broja i skraćenje životnog veka trombocita ukazuju da je u uremiji prisutan njihov povećan promet (“turnover”) uzrokovan oštećenom trombocitopoezom (uremijskim toksinima), trombocitopatijom (strukturni i funkcionalniporemećaj trombocita) i povećanom potrošnjom trombocita zbog aktivacije hemostaznog sistema i prisustva hronične inflamacije (80, 179). U ukupnoj trombocitnoj masi javlja se povećan broj retikulocita, mladih trombocita sa povećanom koncentracijom

sadržaja granula i RNK (slične zapremine kao zreli trombociti) kao pouzdan pokazatelj povećanog prometa/potrošnje trombocita i pojačane megakariocitne aktivnosti kao kompenzatornog mehanizma u održavanju homeostaze trombocita (180, 181, 182). Do skraćanja životnog veka trombocita dolazi zbog oštećene aktivnosti trombocitne COX (183), pojačane ekspozicije negativno naelektrisanog fosfatidilserina na površini ćelijske membrane, signala "prepoznatog" od strane makrofaga za njihovu pojačanu fagocitozu (184) i sprovođenjem HD procedura (182). Strukturalno oštećenje trombocita reprezentovano smanjenjem vrednosti njihove srednje zapremine (mean platelet volume, MPV), doprinosi smanjenju ukupne mase trombocita i krvarećoj diatezi u HBI (185).

Stečena **trombocitopatija** nastaje delovanjem uremijskih toksina, gvanidinosukciline kiseline, fenolne kiseline, paratireoidnog hormona i NO (koji se pod dejstvom L-arginina, metabolita gvanidinosukcinilne kiseline pojačano luči iz endotela). NO je potentni inhibitor adhezije trombocita za EĆ, agregacije trombocita, ekspresije P-selektina i vezivanja fibrinogena. Povećana sinteza trombocitnog i endotelnog NO u uremiji je povezana sa povećanjem cikličnog gvanozin 5'-monofosfata (cGMP) u ovim ćelijama. Poremećaji se delimično gube izdvajanjem trombocita iz uremične plazme ili nakon dijalize, a zdravi trombociti ih mogu razviti inkubacijom u istoj (186).

Poremećaj **adhezije** trombocita nastaje usled poremećenog vezivanja vWF i fibrinogena za glikoproteinske receptore trombocita. Smanjenje broja ili oštećena membranska redistribucija receptora GP Ib posledica je povećane koncentracije glikokalцина (solubilni proteolitički fragment GP Ib), koji u uremiji proteolitički oštećuje GP Ib. Vezivanje vWF i fibrinogena za receptore sprečavaju i prisutni toksini i fibrinogeni fragmenti u uremijskoj plazmi, poremećena multimerska skruktura vWF i oštećena interakcija sa GP receptorima, čemu doprinosi i anemija (179). Iako su mnoga ispitivanja potvrdila postojanje poremećaja **agregabilnosti** trombocita, korelacija između

težine ili etiološkog uzročnika HBI, krvarenja i defektne agregabilnosti trombocita *in vitro* nije utvrđena. U HBI prisutan je i smanjen sadržaj i oštećena sekrecija sadržaja sva tri tipa trombocitnih granula (stečen nedostatak trombocitnih gustih granula-Storage Pool Disease) što otežava aktivaciju i prokoagulantnu aktivnost trombocita i doprinosi krvarenju: tamnih granula (\downarrow ADP, \downarrow serotonin, \downarrow ATP, \downarrow TXA₂, \downarrow TXB₂), α granula (\uparrow PF4, \uparrow β TG) i lizozima (\uparrow cAMP, \uparrow cGMP \rightarrow \uparrow NO, \uparrow Ca⁺⁺ \rightarrow defektan metabolizam arahidonske kiseline \rightarrow \uparrow TXA₂). Uz snižen ADP oštećena je primarna agregabilnost (dolazi do brze dezintegracije stvorenih agregata), a za sekundarnu agregaciju je potrebna veća koncentracija agonista. Preuzimanje i oslobađanje serotonina je redukovano. Oslobađanje ATP nakon stimulacije trombinom je sniženo. Sniženo oslobađanje ATP u testovima agregabilnosti nakon indukcije arahidonskom kiselinom, izaziva aspirin-slično dejstvo (aspirin-like effect) i može biti udruženo sa krvarenjem (187). U HBI agregabilnost trombocita je uz epinefrin, kolagen i arahidonsku kiselinu takođe redukovana, a uz trombin i ristocetin najčešće normalna. Pojačana agregabilnost trombocita uz ristocetin (tip IIb von Willebrand disease-like defect) je udružena sa trombozom (187). Sekundarni hiperparatireoidizam povećava trombocitnu adenil ciklazu (katalizuje pretvaranje ATP u cAMP), dovodi do stimulacije transmembranskog transporta Ca⁺⁺, hiperprodukcije cAMP (sniženja ATP i ADP) i pojačavanja uremijskog krvarenja. U trombocitima uremičara povećana je citoplazmatska koncentracija Ca⁺⁺. Povišen nivo cAMP u HBI (kao i transmembranske adenil ciklaze), dovodi do inhibicije trombocitnog odgovora sniženjem mobilizacije Ca⁺⁺ (snižena mobilizacija trombocitnog Ca⁺⁺ indukovana agonistima korelira sa produženjem vremena krvarenja). Intraćelijski disbalans između agonista (ADP, serotonin) i antagonista (cAMP) dovodi do smanjene aktivacije trombocita. Sinteza PGH₂ i TXA₂ nakon stimulacije ADP-om, kolagenom, trombinom i arahidonskom kiselinom je snižena, najverovatnije zbog smanjenog oslobađanja arahidonske kiseline iz fosfolipida pod dejstvom fosfolipaze A₂.

Međutim, produkcija PGI₂ u uremiji je povišena. Poremećaj odnosa između smanjene trombocitne produkcije TXA₂ i pojačane endotelne sinteze PGI₂ doprinosi krvarećoj dijadezi. Proteinski citoskelet (kontraktilni sistem) trombocita je takođe oštećen – ugradnja aktina u citoskelet je nakon stimulacije trombinom snižena, kao i inudukovana fosfolirilacija tirozina i vezivanje α -aktina i tropomiozina – što smanjuje njihov motilitet i sekretornu funkciju u HBI. Ukupna prokoagulantna aktivnost trombocita merena aktivnošću trombocitnog faktora 3 (PF3) je u uremiji redukovana. Kvantitativna zastupljenost fibrinogenkog receptora (integrin α II β ₃) je očuvana, ali su njegova aktivacija i vezivanje za fibrinogen oštećeni, uz dodatno inhibitorno dejstvo fibrin(ogen) degradacionih produkata (185, 186, 188, 189). Delimično perzistiranje trombocitopatije nakon HD se objašnjava njenim sniženim učinkom na prostacikline koji se zbog veličine molekula ne mogu dilaizirati. Povećanje plazmatskih vrednosti uree i kreatinina ne korelira signifikantno sa rizikom od krvarenja, kao što to nije slučaj ni sa težinom anemije (188, 190).

Anemija koja je u HBI posledica smanjene sinteze eritropetina, oštećene eritrocitopeze i skraćenja životnog veka eritrocita, takođe povećava rizik od krvarenja. Manjak cirkulišućih eritrocita menja reološke osobine krvi, raspoređuje trombocite u centralni deo krvne struje (pri hematokritu < 30%) dalje od subendotelijuma, što smanjuje mogućnost njihove brze reakcije u slučaju vaskulanog oštećenja. Eritrociti takođe oslobađaju ADP i TXA₂ (i inaktivišu PGI₂), tako da je u anemiji agregabilnost trombocita snižena. Dodatni faktor je i manjak hemoglobina. Hgb ima visok afinitet prema NO, tako da višak NO dovodi do povećane aktivacije gvanil ciklaze i rasta nivoa trombocitnog cGMP, koji snižava njihovu agregabilnost. Višak NO takođe dovodi do vazodilatacije i dodatne disperzije trombocita unutar krvotoka (188, 190, 191). Terapijska primena eritropoetina, pored korigovanja anemije kojom se sprečava marginalizacija trombocita i

vezivanje viška NO, dovodi do porasta broja metabolički aktivnih retikulisanih trombocita i poboljšavanja trombocitnih funkcija adhezije i agregacije, povećanjem broja GP IIb/IIIa receptora i stabilizacijom trombocitnog citoskeleta (fosforilacijom tirozina). Održavanje hematokrita od 30% predstavlja minimalnu vrednost za funkcionisanje hemostaze i transport O₂ (oksigenaciju tkiva) (192).

6. KOAGULACIONI ČINIOCI I FIBRINOLIZNI SISTEM U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

U HBI su prisutne značajne promene koncentracije koagulacionih i fibrinoliznih činilaca kao i prirodnih inhibitora koagulacije.

Jedan od pokretača hiperkoagulabilnog stanja u HBI je i TF čija je pojačana produkcija multikauzalna. Prisustvo TF dovodi do aktivacija FVII, brzog generisanja trombina i pojačane sinteze fibrina. U plazmi osoba sa redukovanim klirensom kreatinina prisutne su povišene vrednosti fibrinogena, fibrin degradacionih produkata (FDP), fibrinopeptida A, trombin-anititrombin kompleksa (TAT), protrombinskog fragmenta 1 i 2 (F 1+2) i D dimera, odnosno markera povišene trombinske aktivnosti i stimulacije koagulacione komponente hemostaznog sistema (193, 194). Prisustvo povišenih vrednosti TFPI (u bolesnika na HD) objašnjava se kao protivteža pojačanoj aktivaciji F VII (195). Pored TF, fibrinogena i FVIIa, zbog pojačane sinteze povišene su koncentracije i FVIII, FIX, FX, FXI i FXII, a u okviru endotelne disfunkcije vWF i trombomodulina, dok su aktivnost PC i vrednosti PS i AT redukovane (43, 196).

U NS povišene su vrednosti proteina visoke MT, fibrinogena, FV, vWF + FVIII i α_2 -makroglobulina, prvenstveno zbog njihove pojačane sinteze. Urinarni gubitak plazmatskih proteina, zajedno sa trombinom, FIX, FX i FXII, AT i α_2 -antiplazminom prevazilazi njihovu pojačanu sintezu, tako da je njihova koncentracija snižena. U NS prisutna je inverzna korelacija serumskog albumina i nivoa fibrinogena. Povećan gubitak albumina, zbog njegove poremećene sinteze u jetri, nije moguće nadomestiti, ali sinteza fibrinogena, FV i FVIII prevazilazi renalni gubitak. Hiperfibrinogenemija doprinosi prokoagulantnom stanju i riziku za VTE, povećavajući raspoloživost supstrata za formiranje fibrina, izazivajući hiperagregabilnost trombocita i eritrocita i povećavajući viskozitet krvi. Fibrinski endotelni depoziti nastaju i pojačanim stvaranjem trombina zbog

porasta koncentracije FV i FVIII (164). Sa progresijom HBI, struktura fibrinskog ugruška pokazuje smanjen permeabilitet i veću gustinu fibrinskih vlakana, pojačanu kompaktnost i redukovanu fibrinoliznu osetljivost u odnosu na zdrave osobe, a izmena strukture ugruška je primarno udružena sa hroničnom inflamacijom „niskog intenziteta“ (uz korelciju sa nivoom CRP i IL-6), a manje sa azotemijom (197).

Smanjena fibrinolizna aktivnost u HBI se manifestuje izmenjenim vrednostima molekularnih markera. Vrednosti tPA, uPA i plazminogena su snižene, dok je koncentracija fibrinoliznih inhibitora PAI-1, α_2 -antiplazmina i α_2 -makroglobulina povišena kao i kompleksa PAP (plazmina i α_2 -antiplazmina), koji povećava otpornost ugruška na liziranje (198, 199). Rezultati pojedinih ispitivanja (\uparrow tPA, \downarrow PAI-1) ukazali su na prisustvo pojačane fibrinolizne aktivnosti za koje se pretpostavlja da je rezultat hiperkoagulabilnosti i sekundarne aktivacije fibrinoliznog sistema (200).

U nefrotskom sindromu, nivo albumina i plazminogena inverzno koreliraju, što može voditi sniženoj fibrinoliznoj aktivnosti. Oslobođeni α_2 -antiplazmin u cirkulaciji brzo inaktivira plazmin-antiplazmin kompleks (PAP) koji povećava rezistenciju ugruška na liziranje. Ovo tumačenje je u saglasnosti sa ispitivanjima koja su potvrdila korelaciju visokog nivoa PAP i stepena sniženja kreatinin klirensa ukazujući na mehanizam koji može da objasni povećan rizik za VTE u bolesnika sa HBI (201, 108).

7. TROMBOFILIJA U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Trombofilija predstavlja stanje pojačane funkcionalnosti hemostaznog sistema koje karakteriše sklonost ka nastanku tromboza. Klinički se ispoljava pojavom tromboza u mlađem životnom dobu, sklonošću recidivima, egzacerbacijama i neuobičajenom lokalizacijom tromboznog procesa, pojavom migrirajućih tromboza, proširenošću i težinom tromboznog procesa koja je neproporcionalna stimulišućem faktoru ili odsustvom prepoznatog etiološkog faktora (idiopatska tromboza). Tromboze su često prisutne kod više članova porodice.

Trombofilija može biti primarna i sekundarna, odnosno nasledna (urođena) i stečena. Nasledna trombofilija je uzrokovana genetski determinisanim poremećajima hemostaznog sistema koji se ispoljavaju povećanom sklonošću za nastanak tromboza.

Nasledne trombofilije imaju za posledicu ili nedovoljnu inhibiciju koagulacionog procesa (nedostatak prirodnih inhibitora koagulacije – antitrombina, proteina C i proteina S) ili primarno dovode do hiperkoagulabilnosti (povišene koncentracije pojedinih koagulacionih činilaca, polimorfizam gena za protrombin G20210A i Leiden mutacija faktora V) (202).

Pored toga što je potvrđeno da HBB predstavlja faktor rizika za pojavu arterijske tromboze (koja se objašnjava endotelnom disfunkcijom u bubrežnoj insuficijenciji), takođe je ustanovljeno da rizik za pojavu VTE raste proporcionalno smanjenju JGF (Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology-LITE study; Prevention of Renal and Vascular Disease-PREVENT cohort study). U umerenim stadijumima HBB bolesti (JGF 30-60 ml/min/1.73m²), taj rizik je 2.5 puta veći o odnosu na zdrave, dok je kod značajno snižene bubrežne funkcije (JGF < 30 ml/min/1.73m²) veći 5.5 puta u poređenju sa osobama kod kojih je bubrežna funkcija očuvana (JGF > 90 ml/min/1.73m²). Rizik od VTE je dodatno povećan (4 do 17 puta), u slučaju prisustva arterijske tromboze (OR: 4.9),

maligniteta (OR: 5.8), hirurškog zahvata (OR: 14.0), imobilizacije (OR: 17.1) i trombofilije FV Leiden (OR: 4.3) i FII G20210A (OR: 9.5), a posebno ako su istovremeno zastupljena tri ili više faktora rizika (56.3 puta). Imajući u vidu multifaktorijalnu etiologiju tromboembolizma (TE), rutinsko sprovođenje trombofilnog skrininga u HBB verovatno nije opravdano zbog niske prevalencije trombofilije (FV Leiden i mutacije protrombinskog gena) i umereno povišenog rizika od venske tromboze (VT) (203, 204). Zbog prisutnog rizika od krvarenja kod bolesnika sa HBB, koji je značajno povećan upotrebom antitrombotika (205), preporučena trombopofilaksa se sprovodi individualnim procenom rizika i koristi.

Najmanje jedan trombofilni marker prisutan je u ~50% bolesnika sa TBI. Prevalenca trombofilnih markera je iz još uvek nedovoljno objašnjenih razloga u HBI veća nego u opštoj populaciji, a veća je i u dijaliziranih bolesnika u odnosu na nedijalizirane. Ispitivanje doprinosa trombofilnih markera na incidencu TE tokom dijalize ili nakon transplantacije bubrega dalo je kontradiktorne rezultate, dok mehanizmi uticaja dijaliznog tretmana i transplantacije bubrega na prevalencu i/ili korekciju vrednosti markera trombofilije još uvek nisu potpuno jasni (206, 207). U Tabeli 6. Prikazana je zastupljenost uzroka trombofilnog stanja u TBI.

Tabela 6: Zastupljenost uzroka trombofilije u terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji (208)

| Česti uzroci (prisutni u 15 – 20% bolesnika sa TBI) |
|--|
| FV Leiden mutacija |
| FII G20210A mutacija |
| Antifosfolipidna antitela (aPS) |
| Lupusni antikoagulans (LA) |
| Antikardiolipinska antitela (ACL) |
| Hiperhomocisteinemija |
| Ređi uzroci (prisutni u < 1% bolesnika sa TBI) |
| nedostatak proteina C |
| nedostatak proteina S |
| nedostatak antitrombina (AT) |
| povećana koncentracija koagulacionih činilaca |

Važno je naglasiti da postojanje konkomitatne trombofilije (nasledne, stečene ili mešovite), ne predstavlja jedini uzrok, već doprinosni činilac drugim faktorima rizika, jer udvostručuje mogućnost pojave tromboze u bolesnika sa HBB koji su na hemodijalizi - u 55% bolesnika sa trombozom vaskularnog pristupa postojalo je jedno od trombofilnih stanja (209).

Procena trombofilnog stanja u HBB je od posebnog interesa u sprovođenju prevencije dubokog venskog (DVT) i plućnog tromboembolizma (PTE) kod osoba mlađih od 40 godina, kod kojih je se razvila spontana DVT neuobičajene lokalizacije (gornji ekstremiteti, hepaticne i mezenterijalne vene), kod osoba sa pozitivnom porodičnom anamnezom i kod ponovljenih spontanih pobačaja na kraju I trimestra trudnoće, kod osoba sa trombozom ili rekurentnom trombozom AVF, arteriovenskog grafta (AVG) i/ili dijaliznog filtera i u okviru pripreme za transplantaciju bubrega u cilju smanjenja rizika za odbacivanje transplantata i tromboze renalnog alografta (210).

Stečene trombofilije u HBI su vrlo česte.

Antifosfolipidni sindrom

Do sada je u antifosfolipidnom sindromu (APS) otkriveno više od 25 različitih autoantitela usmerenih protiv fosfolipida ili fosfolipid vezujućih proteina, koja sa različitim potencijalom patogenosti, kompleksnim mehanizmima uz prisustvo HBI, višestrukim prokoagulantnim dejstvom uzrokuju tromboze - aktivacijom trombocita, inhibicijom prirodnih inhibitora, smanjenjem fibrinolizne aktivnosti i direktnim uticaj na EĆ (211). Podaci o prevalenci antifosfolipidnih antitela (aPS) u HBI su različiti zbog njihove kliničke heterogenosti, poteškoća u standardizaciji testova za njihovo određivanje i mogućnosti da je povećan titar aPS posledica pojačanog imunološkog odgovora. Antifosfolipidna antitela signifikantno doprinose ukupnom morbiditetu i mortalitetu bubrežnih bolesnika (212), iako njihova uloga u uremiji nije do kraja razjašnjena, a podaci o povećanju prevalence TE komplikacija kontradiktorni. Primarni i sekundarni APS može dovesti do tromboze renalnog arterijskog stabla, intraparenhimalnih arterija i arteriola, glomerularnih kapilara i renalnih vena, stenozе a.renalis, maligne hipertenzije, infarkta bubrega, trombotičke mikroangiopatije, tromboze renalnog alografta i glomerulonefritisa (213).

Zastupljenost antikardiolipinskih antitela (ACL) u bolesnika sa TBI je visoka (19%) u odnosu na opštu populaciju, što se objašnjava češćom pojavom komorbiditeta (sistemskog lupusa, autoimunih bolesti i infekcija), starijom životnom dobi i upotrebom lekova, tj. stanjima koja predisponiraju njihovu pojavu. I pored visokog prisustva ACL, TE komplikacije nisu česte – prevalenca APS [aPS + arterijska/venska tromboza + spontani pobačaj(i) + trombocitopenija] u HBI je niska (~5%) (210). U HBI je u odnosu na zdrave prisutani povećan titar lupusnog antikoagulansa (LA), sličnih ili viših vrednosti u poređenju sa titrom ACL i aPS (206, 215).

U bolesnika na HD prevalenca LA, ACL, anti β_2 glikoprotein I (anti β_2 GPI) i antiprotrombinskih antitela (aPT) je takođe visoka. Povećan titrar LA nalazi se u do 1/3 dijaliziranih, dok su podaci za ACL različiti (0-29%), sa većom prevalencom u bolesnika sa AV graftom (22%) nego sa AV fistulom (6%), dok su rezultati ispitivanja udruženosti sa trombozom hemodijaliznog pristupa oprečna (216, 217, 218). Identifikovane su i nove subpopulacije aPS, antiprotein-C (aPC) i antiprotein-S (aPS), koja su značajno zastupljena u HD pacijenata sa trombozom vaskularnog pristupa. Mehanizam dejstva aPC i aPS u uremiji se zasniva na inhibiciji sistema proteina C i proteina S, odnosno inhibiciji aktivisanog PC (stečena APC rezistencija), odsustvu enzimske inaktivacije FVIIIa i posledičnog kontinuiranog stvaranja trombina. Dejstvo aPT se zasniva na blokadi kompleksa protrombinaze u stanju aktivacije, što dovodi do kontinuirne transformacije protrombina u trombin. Anti β_2 GPI su u kompetitivnom odnosu sa FV za vezivanje sa β_2 -glikoproteinom I, tako da se vezivanjem β_2 GPI sa anti β_2 GPI stvara manjak raspoloživog β_2 GPI za vezivanje sa FV i njegovog »prezentovanja« sistemu PC - mehanizmu inaktivacije FVa (219).

Stečeni nedostatak antitrombina, proteina C i proteina S

Motiv ispitivanja nedostatka prirodnih inhibitora hemostaze u HBI su rekurentne tromboze vaskularnog hemodijaliznog pristupa, a njihovi rezultati su nekonzistentni: različita zastupljenost deficita AT, PC i PS (pre/posle HD, u zavisnosti od vrste dijaliznog tretmana, primenjene terapije) u odnosu na zdrave, normalizovanje njihovih vrednosti nakon transplantacije bubrega u različitim vremenskim intervalima i uopšteni zaključci u vezi njihovog uticaja i povezanosti sa TE (206, 220, 221, 222).

Najčešća zastupljenost stečenog deficita AT, PC i PS je prisutna u nefrotskom sindromu, a deficit AT je značajniji od deficita PC i PS za pojavu DVT/PTE. Deficit AT je povezan sa rizikom - incidencom od 26.7% za VTE (223) i osam puta većim rizikom u

odnosu na opštu populaciju za razvoj arterijske tromboze (224). U NS prisutna je signifikantna negativna korelacija između vrednosti AT i proteinurije, kao i pozitivna korelacija renalnog klirensa i vrednosti serumskog (deficita) AT. Serumaska koncentracija albumina < 2.0 g/dL je udružena sa značajnim deficitom AT. Vrednost AT $< 70\%$ udružena je sa većom incidencom TE i predstavlja nezavisan prediktorni činilac za pojavu VTE (225).

Povećana permeabilnost glomerularnih kapilara u NS uzrokuje gubitak proteina sličnih veličini albumina (66.5 kDa, 5000 $\mu\text{mol/L}$): antitrombina (65 kDa, 2-3 $\mu\text{mol/L}$), proteina-C (62 kDa, 0.08 $\mu\text{mol/L}$), proteina-S (69 kDa, 0.3 $\mu\text{mol/L}$) i FII (72 kDa, 1-2 $\mu\text{mol/L}$). Albumin i manje makromolekule mogu biti transportovani kroz kapilarnu membranu mehanizmom difuzije prolaskom kroz endotelne pukotine (male pore). Tokom lokalnog/sistemskog zapaljenja permeabilnost mikrovaskularnog korita se povećava kao posledica aktivacije leukocita, trombocita, prisustva proinflamatornih citokina i solubilnih medijatora histamina, trombina i VEGF i njihovog vazoaktivnog i citotoksičnog učinka na endotel. Prekid adherentnih veza između endotelnih ćelija (vaskularno-endotelni kadherin, transmembranski receptori koji su međusobno povezani preko ekstracelularnih domena) postkapilarnih venula (najpodložnijih krvnih sudova za povećenu permeabilnost) i kontrakcije ćelijskog citoskeleta (aktin vezujući proteini – katenini α , β , γ i p120, intacelularno povezani sa kadherinom) kao i njihovih međusobnih veza koje u fiziološkim uslovima održavaju kontinuitet EĆ i sprečavaju ekstravaskularni gubitak proteina, dovodi do gubitka albumina i plazmatskih inhibitora hemostaze. Urinarni gubitak AT i albumina ne može da se nadoknadi, već jetrena hiperaktivnost dovodi do pojačane sinteze fibrinogena, FV i FVIII, što uz hipovolemiju, hemokoncentraciju, povišenu reaktivnost trombocita i stvaranja trombina doprinosi hiperkoagulabilnom stanju u NS. Deficitu AT doprinosi i njegova pojačana potrošnja u NS (226).

Dok je vrednost proteina-C u NS uglavnom očuvana (mada može biti i povećana), stečeni deficit proteina-S je prisutan, bez obzira na povećanu vrednost ukupnog PS antigena. Urinarni gubitak slobodnog PS (niske MT) u NS, dovodi do promene odnosa unutar ukupnog PS u korist povećane koncentracije vezanog PS za C4-vezujući protein (visoke MT) i izraženog sniženja slobodnog PS, što doprinosi hiperkoagulabilnom stanju (165).

Urođeni nedostatak prirodnih inhibitora je redak. Učestalost naslednog deficita AT u opštoj populaciji je ~0.2%, a u bolesnika sa VT iznosi 0.5-7.5%. Urođeni deficit PC prisutan je u populaciji u oko 0.2% slučajeva, a među bolesnicima sa trombozom 2.5-6%. Učestalost naslednog deficita PS u opštoj populaciji nije poznata, a u obolelih od VT je 1.3-5% (227). Nasledni deficit AT, PC i PS je prisutan u <1% bolesnika sa TBI. U naslednom deficitu AT bubrežna insuficijencija može da bude posledica fibrinske depozicije u glomerulu ili tromboze renalne vene. Kod ovih bolesnika u slučaju početne HBB deficit AT može da se pogorša urinarnim gubitkom, te je kod njih indikovana rana primena antikoagulantne terapije, a tokom HD primena Agravatobana, direktnog inhibitora FIIa koji se metaboliše u jetri (228).

Hiperhomocisteinemija

Poremećaj metaboličkog ciklusa homocistein-metionin (u koji su uključeni katabolički procesi remetilacije uz učešće metiltetrahidrofolata-MTHF i kobalamina-vitamina B₁₂ i transsulfuracije, uz učešće piridoksalfosfata-vitamina B₆ uzrokuje nagomilavanje homocisteina. Blaga HHcy-hiperhomocisteinemija (15-45µmol/L) je nezavisan faktor rizika za nastanak rane arterijske koronarne bolesti i tromboembolijskih komplikacija u venskom sistemu (229, 230). HHcy ispoljava aterogeno i trombogeno dejstvo mehanizmima koji oštećuju endotel krvnih sudova (pojačavajući ekspresiju TF, smanjujući ekspresiju heparin sulfata, inhibišući oslobađanja NO i prostaciklina, vezivanja

tPA za endotelni receptor aneksin II i ekspresiju trombomodulina čime se smanjuje aktivacija PC), pretvarajući endotel u površinu koja deluje aktivirajuće na trombocite i produkciju trombina (231). Hcy stimuliše rast GMĆ (i subendotelnu proliferaciju preko aktivacije gena MPP-9), a inhibitorno deluje na rast EĆ. Svoje trombogeno delovanje Hcy ispoljava uzrokujući oksidativni stres – oksidacijom sulfhidrilne grupe i generisanjem ROS – superoksida, vodonik peroksida i hidroksilnih radikala koji inaktiviraju endotelni NO direktno ili blokiranjem eNOS putem ADMA čija je koncentracija povišena u HHcy (232, 219).

Homocistein je jedan od uremijskih toksina konstantano prisutan u HBI.

Stečena hiperhomocisteinemija se pojavljuje pri smanjenju JGF < 70 ml/min (direktna koercija sa JGF i serumskim kreatininom). Prevalenca umerene (16-30 $\mu\text{mol/L}$) i srednje (31-100 $\mu\text{mol/L}$) HHcy kod uremijskih bolesnika je 80 – 95%. Uzročni mehanizmi HHcy su oštećeno izlučivanje, smanjen bubrežni metabolizam i inhibicija ekstrarenalnih enzima uključenih u metabolizam Hcy drugim akumuliranim uremijskim toksinima. Upotreba folata (kosupstrata enzima metioninsintetaze, ključnog enzima u odstranjivanju Hcy) i u povećanim dozama u uremiji ne dovodi do potpune normalizacije vrednosti Hcy što sugeriše na inhibiciju pomenutog enzima od strane drugih uremijskih toksina; savremene dijalizne mašine (»superflux dialyzers«) mogu normalizovati vrednosti Hcy jer istovremeno zadržavaju i slobodni i vezani Hcy, a i većinu uremijskih toksina koji inhibišu enzime involvirane u metabolizam Hcy; nakon transplantacije bubrega nivo Hcy se normalizuje jer recipijenti pozitivno reguju na povećane doze primenjenih folata ali mogu i da se povećaju zbog pozitivne korelacije sa količinom primenjenih imunosupresiva i kortikosteroida (233, 230).

Nasledna hiperhomocisteinemija uzrokovana je deficitom dva najznačajnija enzima koja učestvuju u metabolizmu Hcy, cistation β sintetaze (učestalost heterozigotnog

poremećaja u opštoj populaciji je 0.3-1.4%) i metilentetrahidrofolat reduktaze (učestalost homozigotnog obilka 5-15%). Ispoljavanje ekspresije mutacija gena koje dovode do HHcy zavisi od zastupljenosti folata i vitamina B₁₂ u ishrani, posebno u mlađoj životnoj dobi, pri čemu je povećan rizik za nastanak tromboza povezan sa fenotipom, a ne sa genotipom (234).

Učestalost homozigotnog i heterozigotnog polimorfizma gena metilentetrahidrofolatreduktaze-MTHFR C677T i A1298C je u pojedinim istraživanjima u HBI dvostruko veća u odnosu na zdrave (što ove genske poremećaje ujedno svrstava u faktore rizika za pojavu HBI), s tim da je rizik od tromboze u slučaju udruženosti homozigotnih oblika sa HBI povećan oko 15 puta. Iako je HHcy prisutna u HBI, vrednosti homocisteina su signifikantno povišene ukoliko je HBI udružena sa homozigotnim oblicima genskih polimorfizama MTHFR (235). Tromboza vaskularnog pristupa za HD u većini istraživanja je udružena sa plazmatskim vrednostima homocisteina, mada se ista veza nije mogla utvrditi i sa MTHFR genskim polimorfizmom (236, 237). Takođe je utvrđeno da svako povećanje vrednosti Hcy za 1 µmol/L povećava rizik za pojavu tromboze AVF/AVG za 4% (236), da je svako povećanje vrednosti Hcy za 10 µmol/L u HBI (CREED study) udruženo sa 20% povećanjem rizika od KVB (238), kao i da su bolesnici na HD sa blagom ili umerenom HHcy izloženi povišenom riziku od KVB sa godišnjim mortalitetom od 20% i trombozi vaskularnog pristupa (239). Ispitivanja akutnog odbacivanja i/ili preživljavanja renalnog alografta nisu utvrdila udruženost sa MTHFR polimorfizmom i HHcy (240, 241). Hcy je marker prognoze ishoda KVB i u opštoj populaciji i u HBB. Normalizovanje vrednosti Hcy snižava KV morbiditet i mortalitet u HBI koja nije udružena sa dijabetesom, dok dijabetesna hiperglikemija u HBI dovodi do rezistencije na terapiju koja se primenjuje u cilju sniženja vrednosti Hcy (242).

Mutacija gena FV Leiden G1691A i protrombin FII G20210A polimorfizam su najčešće zastupljene trombofilije među bolesnicima sa trombozom (243), koje takođe mogu povećati rizik za razvoj BI, mada je raspoloživih podataka o njihovoj udruženosti sa HBI vrlo malo, dok neki autori (240) isključuju ovu mogućnost. Obe mutacije su udružene sa tromboznim komplikacijama vaskularnog pristupa i povećanjem prevalencije akutnog odbacivanja renalnog transplantata (235). Incidencija FV Leiden i FII G20210A se u različitim etničkim grupacijama značajno razlikuje (češća je FV Leiden od FII G20210A), dok je učestalost u trombozama FV Leiden > 20% , a FII G20210A oko 6% (202).

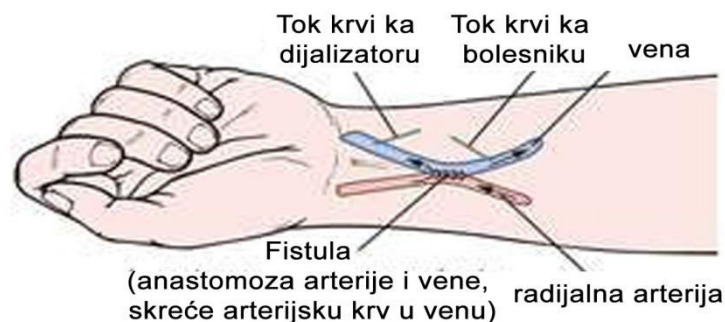
U istraživanjima zastupljenosti u HBI, heterozigotne mutacije nisu identifikovane, a prisustvo heterozigota FV Leiden (11.3%) je oko 3 puta veće u odnosu na kontrolnu grupu (3.2%) (235). U istraživanju prisutnosti u trombozi AVF, prevalencija zastupljenosti obe mutacije (FV Leiden heterozigot-13%, FII G20210A heterozigot-8.7%) je bila dvostruko viša u odnosu na populacionu (FV Leiden heterozigot-7.1% i FII G20210A-2.2%) (244, 245).

Akutno odbacivanje renalnog transplantata, češće kod nosilaca FV Leiden mutacije objašnjava se endotelialitismom i fibrinoidnom vaskularnom nekrozom u hiperkoagulabilnom stanju, zbog povišenog stvaranja snažnog mitogena trombina, koji dovodi do aktivacije T limfocita (EĆ, GMĆ i trombocita) i produkcije IL-2, odnosno indukcije humoralno/celularnog odbacivanja organa. Zbog oštećenja EĆ stvaranje TM je smanjeno, a trombofilno stanje indukuje i sekundarno oštećenje nekontrolisanim stvaranjem mikrotromba dovodeći i do oštećenja perfuzije i ishemije transplantata (240).

8. VASKULARNI PRISTUP U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ INSUFICIJENCIJI

Cilj terapije HBB je odlaganje i zaustavljanje progresije i lečenje patoloških manifestacija bolesti. Međutim u terminalnoj fazi bolesti, kada se JGF smanji ispod 15 mL/min, komplikacije je moguće lečiti jedino hroničnom dijalizom (hemodijalizom ili peritonealnom dijalizom) ili transplantacijom bubrega tj. nadoknadom potpuno ili delimično izgubljene bubrežne funkcije (Renal Replacement Therapy).

Pronalaskom ekstrakorporalne dijalize krvi koja je prvi put uspešno primenjena 1945. godine od strane W. J. Kollif-a i saradnika, obezbeđeno je sredstvo koje osobu sa HBI, do tada fatalne bolesti, može održati u životu duže vreme. Realizacija punog potencijala HD započela je 1960. godine kada su W. Quinton, B.H. Scribner i saradnici u upotrebu uveli spoljašnji teflonski arteriovenski šant u obliku tubusa sa iglama na oba kraja čija se funkcionalnost mogla održati svega par dana, a u punoj meri nastavljena 1966. godine kada su M.J. Brescia, J. Cimino i saradnici, na osnovu činjenice da postraumatske fistule kod veterana iz Korejskog rata nisu izazivale štetne posledice po njihovo zdravlje i da su predstavljale mesto iz koga je lako, u više navrata bilo moguće uzet uzorak krvi, hirurški kreirali endogenu arteriovensku fistulu (Slika 3) koja je do danas ostala najefikasniji i najtrajniji metod za dugoročni vaskularni pristup za hemodijalizu. Od 1973. godine, kao trajni vaskularni pristup u upotrebi su pored autoloških i protetsko-sintetički (PTFE-politetrafluoretilen) vaskularni graftovi (Gore-Tex®, Impra®, Dacron®), a od 1980/90 godine kao privremeni vaskularni pristupi za hemodijalizu i centralni venski kateteri (CVK) odnosno CVK sa manžetom (Cuffed CVC) (246).



Slika 3. Radiocefalična arterijsko-venska fistula (Brescia-Cimino AVF)

8.1. Autologna arteriovenska fistula (AAVF)

AAVF predstavlja hirurški izveden spoj između susedne arterije i vene kod bolesnika kod kojih se planira hemodijaliza, sa ciljem preusmeravanja arterijske krvi u vensku, koja se u veni arterijalizuje zbog novonastale hemodinamike.

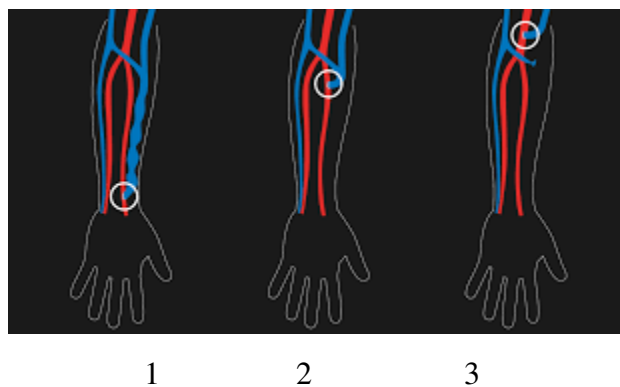
Kreiranje arteriovenske fistule podrazumeva integralno i interdisciplinarno angažovanje nefrologa, radiologa ultrasonografiste, vaskularnog hirurga i interventnog radiologa (247).

Uz blagovremenu edukaciju bolesnika o progresivnom toku bolesti, mogućnostima dijaliznog tretmana i transplantacije bubrega, treba na vreme ($JGF \geq 20$ ml/min/1.73m²) obezbediti stalni funkcionalni vaskularni pristup za hemodijalizu hirurškom intervencijom kreiranja AVF, po mogućnosti najmanje 6 meseci pre anticipiranog započinjanja HD, jer je za njenu maturaciju potrebno 4 do 6 nedelja.

NKF KDOQI vodič kliničke prakse za vaskularni pristup »snažno preporučuje maksimiziranje upotrebe AVF kod svih bolesnika sa odgovarajućom vaskularnom anatomijom« (248). Po Konner-u hirurško kreiranje AVF je izvodljivo u 50-90% bolesnika.

Endogena radiocefalična arteriovenska fistula na distalnoj podlaktici nedominantne ruke je opšte preporučeni najbolji stalni vaskularni pristup za bolesnike kod

kojih se planira hemodijaliza («as distal as possible for as long as possible») (246, 248). Za kreiranje AVF izbegavaju se donji ekstremiteti zbog njihove češće izloženosti infekcijama, posledicama periferne vaskularne bolesti i manjeg komfora za bolesnika. Alternativa radocefaličnoj AVF je brahijana AVF, potom PTFE AV graft, a permanentni CVK predstavlja sekundarni izbor (249, 250). Dok je u Evropi krajem devedesetih godina prošlog veka, u oko 80% dijaliziranih bolesnika kreirana AVF, a u Japanu u 90% slučajeva, u SAD je od 2000. do 2008. njihov broj povećan od 24% na 52% , a od 2010. do 2013. godine od 63% na 68% bolesnika (istovremeno je upotreba graftova smanjena sa 58% na 22%, tj. sa 19 % na 15 %). Međutim, kod približno 70% bolesnika u SAD hemodijaliza i dalje započinje sa CVK. Iako je stopa rane primarne nefunkcionalnosti u AVF veća nego kod vaskularnih graftova, nakon sazrevanja, autologna AVF održava dužu i bolju patentnost uz manji broj pratećih komplikacija u odnosu na protetske AVG (251, 251, 253). Na Slici 4.. su prikazane najčešće lokacije AVF.



Slika 4. Radiocefalična(1), brahiocefalična(2), brahiobazilarna(3) arteriovenska fistula

U cilju uspešne maturacije preoperativno se preporučuje ultrasonografsko vaskularno mapiranje veličine krvnih sudova i identifikacija arterije minimalnog dijametara od 2 mm i vene od 2.5 mm bez prisustva stenoze ili tromboze, koje mogu biti iskorišćene

za kreiranje AVF (254, 255). Pored dijametra krvnih sudova, za maturaciju AVF značajnim se smatraju drugi vaskularni parametri - distenzibilitet i reaktivna hiperemija.

Postoje značajne razlike literarnih navoda definicije uspešno sazrele tj. funkcionalne AVF. Minimalni uslovi uključuju prisustvo trila/šuma (»thrill or bruit«) utvrđenog fizikalnim pregledom, mogućnost njene upotrebe tokom jednog dijaliznog tretmana ili najmanje tokom jednog meseca sa protokom krvi > 350 ml/min (255).

8.2. Sazrevanje (maturacija) arteriovenske fistule

Hirurško kreiranje AVF oštećuje krvne sudove, endotel i GMC. U reparaciji krvnog suda najznačajniju ulogu ima vaskularni endotel i njegovi brojni medijatori kao i novouspostavljene biomehaničke i hemodinamske sile (tonus krvnog suda i »shear stress«) koje su važni modulatori posttraumatskog odgovora. Posledična inflamacija, proliferacija i migracija GMC, kao deo fiziološkog procesa neointimalne hiperplazije, najvažnijeg mehanizma reparacije krvnog suda, dovode do remodelovanja krvnih sudova angažovanih u AVF dovodeći do njenog uspešnog ili bezuspešnog sazrevanja, u zavisnosti od intenziteta procesa (256).

Nakon kreiranja AVF, arterijski i venski protok krvi se povećava 10-20 puta, a sila trenja »shear stress«-a 2.5-5 puta, što dovodi do skoro trostrukog povećanja unutrašnjeg dijametra tj. dilatacije radijalne arterije i cefalične vene. Dilatacija i adaptivno remodelovanje krvnog suda (*pozitivno»adaptivno« remodelovanje*) smanjuju »shear stress« do njegovog normalizovanja posle 3 meseca. Ove promene su tokom dvanaestonedeljnog sazrevanja AVF praćene progresivnim povećanjem površine preseka zida venskog krvnog suda tj. povećanjem njegove mase za 1.8 do 2.8 puta, dok se paralelno remodelovanje radijalne arterije odvija bez hipertrofije njenog zida uprkos značajnom povećanju dijametra i krvnog protoka. Jačina »shear stress«-a i dijametar

krvnog suda su u inverznom odnosu. Zbog toga, svi činioci koji sprečavaju dilataciju krvnog suda (medijalna fibroza, mikrokalcifikacije i hiperplazija intime) ugrožavaju maturaciju AVF.

Na taj način, dva paralelna procesa doprinose odgovarajućoj maturaciji AVF pri čemu EĆ ima centralnu ulogu u adaptivnom remodelingu: 1. Povišen protok krvi i sila trenja u endotelu inicira kompenzatorni odgovor - apikalni deo ćelije se deformiše u pravcu krvne struje dovodeći do remodelinga citoskeleta, aktivacije signalne kaskade i brze sinteze NO, prostaciklina, transkriptivnih faktora (NF κ B, c-fos, c-jun, SP-1) i medijatora adaptivnog odgovora (integrina, adhezivnih proteina i Ca^{++} kanala senzitivnih na rastezanje), koji uzrokuju i održavaju arterijsko-vensku dilataciju. Proces remodelovanja krvnog suda započinje kontrolisanim otklanjanjem konstituenata zida krvnog suda - fragmentacijom elastina i kolagena unutrašnje lamine elastike delovanjem MMP oslobođene iz EĆ, povećanjem fenestri i rastegljivosti krvnog suda; 2. Povećanje protoka unutar venskog segmenta AVF vodi i do porasta transmuralnog (cirkumferentnog) pritiska koji pozitivno utiče na zadebljanje zida vene, pretežno zbog hipertrofije medije (257).

Najvažniji hemodinamski parametri koji utiču na fiziologiju maturacije AVF su »shear stress« zida krvnog suda i transmuralni (cirkumferencijalni) pritisak.

I. »Shear stress« predstavlja silu trenja koju krvna struja vrši na zid krvnog suda (zavisi od viskoziteta krvi, brzine protoka i poluprečnika lumena krvnog suda). U odnosu na jačinu, postoje dva oblika »shear stress«-a :

A. Fiziološki (laminarni) »shear stress« :

Povećanje »shear stress«-a (zbog povećanog krvnog protoka) dovodi do orijentisanja apikalnog dela EĆ u pravcu strujanja krvi, sekrecije antiinflamatornih i antikoagulantnih medijatora. Fiziološka stabilizacija EĆ praćena je odgovarajućom

dilatacijom krvnog suda (\uparrow NO) i redukcijom neointimalne hiperplazije (pozitivan vaskularni remodeling).

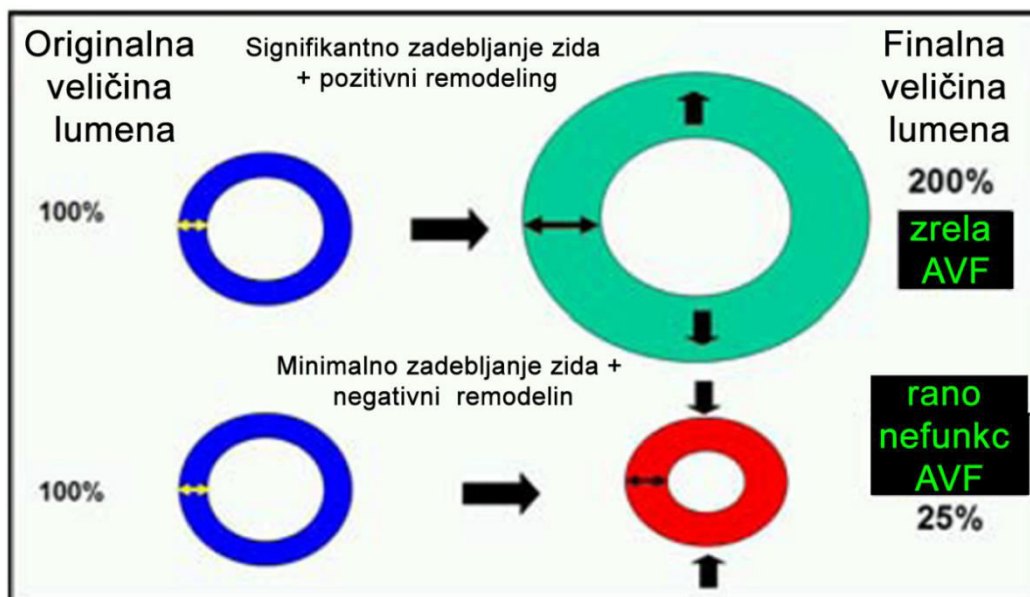
B. Oscilatorni »shear stress« :

Sniženje »shear stress«-a (redukcija krvnog protoka) dovodi do aktivacije i proliferacije EĆ, promene ćelijskog oblika, oslobađanja inflamatornih i prokoagulantnih medijatora i smanjene sinteze NO, što dovodi do vazokonstrikcije, proinflatornog stanja sa aktivacijom MMP, pojačane ćelularne proliferacije i stimulacije procesa neointimalne hiperplazije (negativni vaskularni remodeling).

II. Transmuralni-cirkumferencijalni pritisak je pritisak koji se generiše unutar krvnog suda. Njegovo povećanje izaziva aktivaciju GMĆ, pojačanu ekspresiju citokina i komponenti ekstracelularnog matriksa, što dovodi do zadebljanja zida krvnog suda tj. venske medijalne hipertrofije. Ovaj »kompenzatorni« mehanizam smanjuje transmuralni pritisak na bazalni nivo.

Neointimalna hiperplazija AVF je posledica neadekvatnog profila »shear stress«-a (proaterogeni vs. ateroprotektivni tip »shear stress«-a), dok je medijalna hipertrofija uzrokovana povećanjem transmuralnog pritiska (258).

Veličina luminalne stenozе u AVF je determinisana balansom između jaćine vaskularne dilatacije ili vazokonstrikcije i velićine neointimalne hiperplazije i medijalne hipertrofije. Iako signifikantna, neointimalna hiperplazija i medijalna hipertrofija neće dovesti do stenozе lumena ako je dilatacija adekvatna (*pozitivno »adaptivno« remodelovanje krvnog suda*) i obrnuto, u odsustvu dilatacije i manja hiperplazija intime i manja hipertrofija medije dovodi do izražene stenozе (*negativno remodelovanje, vazokonstrikcija krvnog suda*) (259, 260).



Slika 5. Shematski prikaz remodelovanja zida krvnog suda tokom maturacije AVF (260)

Uspešna maturacija nakon 4-6 nedelja omogućava korišćenje AVF za sprovođenje adekvatnog hemodijaliznog tretmana, kao i njenu čestu upotrebu. Da bi hemodijaliza bila efikasna, krvotoku se mora uspešno »prići« tri puta nedeljno, zbog čega vaskularni pristup za bolesnika predstavlja tzv. »liniju života« (260).

NKF/DOQI vodič za vaskularni pristup (2006), navodi anatomske i funkcionalne parametre za adekvatno sazrelu AVF koja je zadovoljila »pravilo šestica«: 6 nedelja nakon kreacije, protok veći od 600 ml/min, dijametar veći od 0.6 cm, minimalna dužina konduita 6 cm, na dubini većoj od 0.6 cm ispod kože. Fistula ovakvih karakteristika je uspešno maturirala, pogodna je za efikasnu hemodijalizu i dugotrajnu eksploataciju (261).

8.3. Disfunkcija arteriovenske fistule

Disfunkcija hemodijaliznog vaskularnog pristupa predstavlja najčešći razlog hospitalizacije i najvažniji uzrok morbiditeta i mortaliteta bolesnika na HD, kao i visokih troškova fondova zdravstvenog osiguranja. Prema podacima američkog nacionalnog programa socijalnog osiguranja Medicare-a, disfunkcija vaskularnog pristupa je razlog za

20% hospitalizacija bolesnika na HD, a što angažuje 7.5% troškova od ukupno 14 milijardi dolara namenjenih lečenju bolesnika sa HBI.

Poremećaj funkcionalnosti AVF može biti primarna (rana) nefunkcionalnost, zbog njene *neuspešne maturacije* i kasna nefunkcionalnost zbog *venske stenoze praćene trombozom* (259).

AVF je primarno (rano) nefunkcionalna ako se zbog *neuspešne maturacije* nije adekvatno razvila da bi se koristila za HD ili je postala nefunkcionalna tokom prvih 3 meseca upotrebe. Ova komplikacija se javlja u 23% do 46% slučajeva (objedinjeni podaci za Evropu i SAD). Primarna patentnost AVF u prvoj godini iznosi 60% - 65%. Radiološki je karakteriše rana tromboza i/ili stenoza konstitutivnog segmenta AVF.

Najčešći razlozi za neuspelu maturaciju AVF su neodgovarajuća venska dilatacija (tj. negativni vaskularni »remodeling« zbog vazokonstrukcije vene), kombinovana sa razvojem ekscentrične VNH, stenoze i posledične tromboze (260, 262).

Drugi najčešće pominjani klinički razlozi za neuspešnu maturaciju AVF su starije životno doba, ženski pol, vaskularni komorbiditeti-periferna i koronarna vaskularna bolest, manji preoperativni venski distenzibilitet (kvalitet vene, genetska predispozicija), podlaktatna lokalizacija fistule, promer dovodne arterije < 1.6 mm i venski dijametar < 2.5 mm, iskustvo hirurga i izabrana hirurška tehnika (258).

Kasna nefunkcionalnost AVF je definisana kao nemogućnost korišćenja sazrele fistule za HD, nakon najmanje 3 meseca njene redovne upotrebe. Najčešći razlog je *stenotična vaskularna lezija i tromboza*, koje se u najvećem broju slučajeva javljaju na venskom segmentu AVF, a mnogo ređe zbog sličnog procesa i na arterijama (ANH). Zbog smanjenja dotoka krvi HD je neadekvatna.

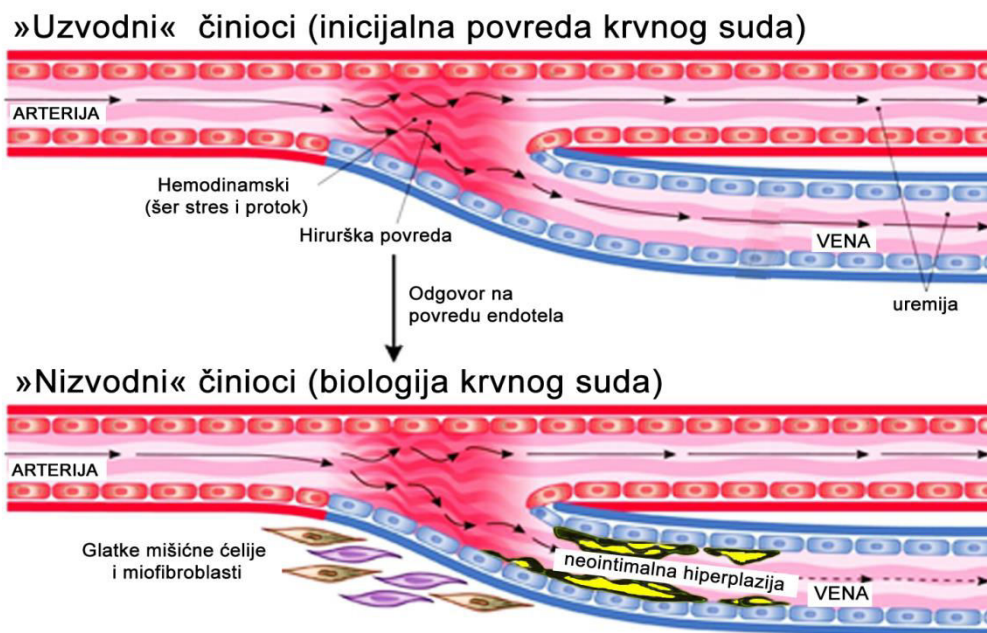
U oba slučaja nefunkcionalnosti, položaj stenoze zavisi od tipa AV fistule. Radiocefalična stenoza se najčešće dešava u samoj anastomozi ili oko nje tj. peri-

anastomotično (stenoza može zahvatiti sve njene segmente, venski, anastomotički ili arterijski), dok je u brahiocefaličnih AV fistula suženje obično juksta-anastomotično (suženje venskog segmenta fistule u dužini do 3cm od anastomoze). Proksimalnije stenozе moguće su u oba slučaja, a posebno u brahiocefaličnoj, gde dolazi do stenozе cefaličnog luka.

Stenotično područje čine α -aktin pozitivne GMC i eksprimovani medijatori i citokini unutar medije i intime vene (TGF- β , PDGF i endotelin). Veći deo α aktin+GM ćelija, koje dominiraju u neointimalnoj leziji ispoljavaju markere »miofibroblasta« ili glatkomišićnih ćelija »sintetičkog fenotipa« - vimetin i α -aktin, ali ne i markere desmin i smutelin. Nepoznato je da li su ovi miofibroblasti transformisani fibroblasti koji su migrirali iz adventicije i razvili glatkomišićnu aktinsku ekspresiju da bi postali miofibroblasti ili su kontraktilne glatkomišićne ćelije migrirale iz medije i izgubile desminsku, a stekle ekspresiju vimetina (ovo je značajno sa terapijskog aspekta, zbog ciljnog delovanja na miofibroblaste, a ne na fibroblaste ili kontraktilne GMC medije) (258, 260, 262).

Pored pomenutih histoloških karakteristika zida venskog krvnog suda i hemodinamskih uslova u etiopatogenezi ovog »adaptivnog odgovora« značajnu ulogu imaju endotel, sve komponente hemostaznog sistema, imunološki, citološki činioci i genetski faktori (263).

Patogenezu progresivne VNH u stenozu AVF koja se razvija u prva 3 meseca nakon kreiranja, čine tzv. »uzvodni« i »nizvodni« činioci. (Slika 6. Shematski prikaz delovanja »uzvodnih« i »nizvodnih« činilaca na formiranje neointimalne hiperplazije AVF).



Slika 6. Shematski prikaz delovanja »uzvodnih« i »nizvodnih« činilaca na formiranje neointimalne hiperplazije AVF (264)

»Uzvodni« činiloci su hirurška trauma tokom kreiranja AVF (uzrokuje vazospazam i ishemiju), nizak »shear stress« u arterijsko-venskoj anastomozi koji dovodi do turbulentnog toka krvi, prethodne venepunkcije, ranija angioplastika na mestu kreiranja AVF, genetska predispozicija ka vazokonstrukciji i neointimalnoj hiperplaziji, prethodno postojanje VNH i endotelna disfunkcija uzrokovana uremijom. Svi »uzvodni« činiloci povredom endotela izazivaju kaskadnu aktivaciju medijatora odgovornih za »nizvodne« događaje – oksidativni stres, zapaljenje i endotelijalnu disfunkciju, koji dovode do migracije glatkomišićnih ćelija iz medije u intimu i formiranja neointimalne hiperplazije.

»Nizvodni« događaji predstavljaju odgovor na povredu EĆ i GMC »ushodnim« dešavanjima. Dolazi do aktivacije, proliferacije i migracija fibroblasta, GMC i miofibroblasta iz medije u intimu uz nagomilavanje produkata koji doprinose VNH.

Oksidativni stres – predstavlja reakciju na povredu krvnog suda delovanjem »uzvodnih« činilaca, a uzrokovan je sniženjem produkcije enzima hem oksigenaze (HO-1) koji katalizuje razgradnju hema i koji ima antiinflamatorno i antiproliferativno dejstvo.

Smanjena sinteza može biti uzrokovana i genskim polimorfizmom HO-1. Posledično, nakon kreiranja AVF dolazi do ekspresije proinflamatornih medijatora MCP-1, MMP- i MMP-9, ključnih enzima u razgradnji proteina ekstracelularnog matriksa kolagena i elastina, čime se omogućuje vazodilatacija. Oba enzima olakšavaju i proliferaciju i migraciju GMC i inflamatornih ćelija – važnih za proces razvoja neointimalne hiperplazije i vaskularne stenozе. Nedostatak HO-1 potencira proksidantni i proinflamatorni učinak MMP. Indukcija i ekspresija HO-1 je ključni regulator u funkcionalnom i biološkom razvoju AVF zbog njegovog posredovanja u regulaciji stvaranju proinflamatornih i prooksidativnih medijatora.

Zapaljenje – izaziva hemokin monocitni hemoatraktantni protein (MCP-1), stimulisanjem hemotakse monocita i makrofaga, i aktivacijom EC i GMC i indukcijom prokoagulantnih medijatora. Koncentracija MCP-1 nakon kreiranja fistule raste, a MCP-1 je prediktor disfunkcije i neuspele maturacije AVF, dok inhibicija MCP-1 značajno redukuje razvoj VNH. Inflamaciju karakterišu povećan nivo markera zapaljenja (CRP, IL-6, TNF- α), dok je prisustvo inflamatornih ćelija (makrofaga i limfocita), citokina TGF- β , insulinu sličnog faktora rasta (IGF-1) i ICAM-1 u korelaciji sa magnitudom neointimalne hiperplazije i venskom stenozom AVF.

Poremećaj endotelne funkcije – nastaje progresijom HBB a očituje se smanjenom sposobnosti produkcije NO (preko endotelne-eNOS i inducibilne-iNOS) potencirajući inflamatorni i oksidativni stres. Progresivna akumulacija ADMA, inhibitora NOS (nivo kod zdravih je 2-6 puta viši u odnosu na bolesnike sa HBI), takođe predstavlja negativan prediktorni faktor za maturaciju AVF (264, 265).

Tradicionalno tumačenje VNH ističe migraciju glatkomišićnih ćelija iz medije u intimu, dok novija istraživanja potvrđuju takođe i migraciju fibroblasta iz adventicije, kroz mediju u intimu krvnog suda, gde se pomenute ćelije transformišu u »miofibroblaste« i

doprinosu formiranju finalnog neointimalnog volumena. Takođe, pojedine GMC, mogu delimično voditi poreklo od ćelija kosne srži (bone marrow derived cell) koje se vezuju za mesto povrede i kasnije dediferenciraju u ćelije glatkomišićnog fenotipa u neointimi (260, 266).

Teorija geneze neointimalne hiperplazije ističe da povreda endotela i glatkih mišića izaziva migraciju GMC i miofibroblasta iz medije u intimu gde proliferišu i formiraju VNH. Povreda, migracija i proliferacija su orkestrirane velikim brojem medijatora: regulatorima ćelijskog ciklusa (p27, p16, retinoblastomski protein, p38 mitogen aktivirajuća protein kinaza MAP), citokinima (PDGF, osnovni fibroblastni činilac rasta bFGF, TNF- α), hemokinima (monocitni hemoatraktantni protein-1 MCP-1 i RANTES), vazoaktivnim molekulima (NO, endotelin), adhezivnim molekulima (ICAM-1, P-selektin) i drugim molekulima (osteopontin, apo-E, MMP-2, humani hepatocitni faktor rasta) (258, 259).

Mitogeneza GMC, koju direktnim vezivanjem za ćeliju i stimulacijom njene proliferacije podstiče osnovni fibroblastni činilac rasta (bFGF), može biti inhibisana endotelnim heparin-sulfatnim proteoglikanima (HSPG) koji direktno vezuju bFGF (pri čemu veći afinitet ispoljavaju frakcije sa dužim PG-lancima koji sadrže protein perlekan) (267). Oba faktora rasta - bFGF i TGF- β (inhibiše rast EC i GMC) su u interakciji sa ekstracelularnim matriksom, koji predstavlja platformu za njihovo delovanje ili sekvestraciju – njihovim reverzibilnim vezivanjem učinak je pojačan, dok je ireverzibilnom absorpcijom učinak onemogućen (268). Takođe, PDGF i TGF- β_1 na ekspresiju MMP imaju suprotan učinak. PDGF stimuliše EC u produkciji MMP-2 i MMP-9, dok TGF inhibiše ekspresiju obe MMP (269).

9. PRIMENA ANTITROMBOZNIH LEKOVA U HRONIČNOJ BUBREŽNOJ INSUFICIJENCIJI

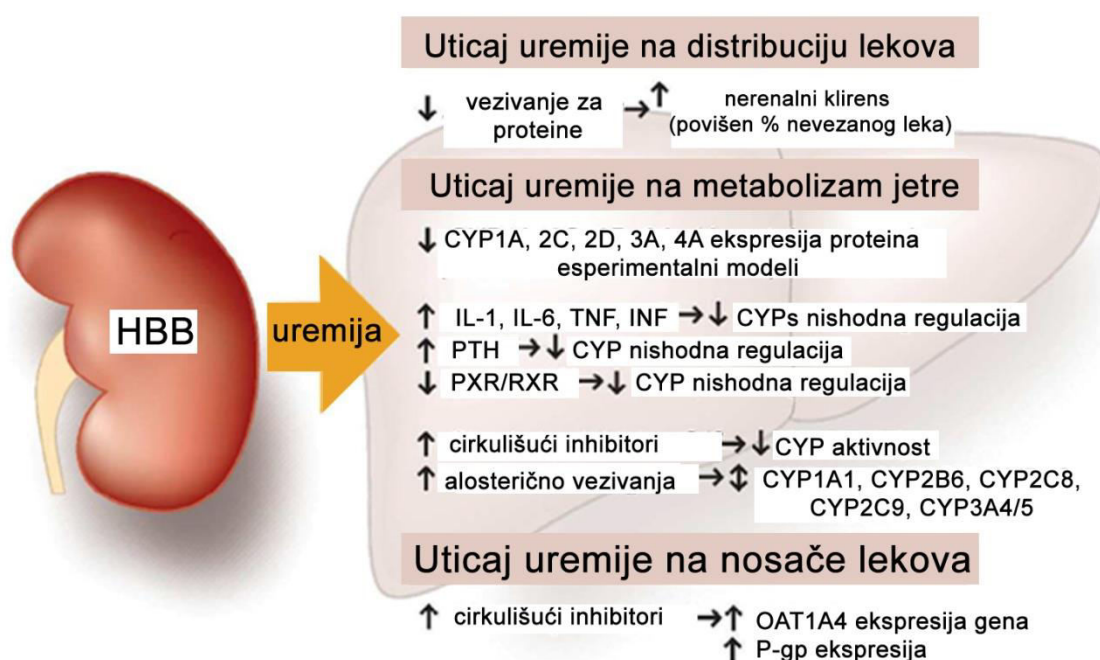
Primena antikoagulantnih i antitrombocitnih lekova u sprovođenju trombopofilakse u HBI predstavlja izazov i rizik zbog izmenjene funkcionalnosti svih komponenti hemostaznog sistema i činjenice da se hiperkoagulabilnom, protromboznom stanju u početnim stadijumima, u završnoj fazi bolesti pridružuje krvareća dijateza.

Dodatni problem predstavlja uticaj HBB na metabolizam lekova, njihovu volumensku (zapreminsku) distribuciju i dispoziciju (raspoloživost) koji je posebno izražen u završnom uremijskom stadijumu. HBI utiče na intestinalnu absorpciju lekova, vezivanje za plazmatske proteinske nosače i za efektorno (ciljno) tkivo, hepatički, renalni i intestinalni transport, a na umanjenje sistemskog klirensa na dva načina – već kompromitivanim renalnim klirensom ali i signifikatnom redukcijom nerenalnog klirensa i smanjenjem bioraspoloživosti lekova koji se predominantno metabolišu u jetri i tankom crevu. (270).

Poremećaj vezivanja leka za plazmatske proteine nastaje zbog konfirmacionih izmena albumina koje smanjuju njegov kapacitet vezivanja kao i zbog kompetitivnog vezivanja uremijskih toksina za albumin, što zajedno dovodi do povećanja koncentracije slobodne-nevezane frakcije leka. Ovaj poremećaj se tokom HD samo delimično koriguje (271).

Uremijski toksini, proinflamatorni citokini i paratiroidni hormon u intestinumu i jetri smanjuju transkripcionu aktivaciju i gensku ekspresiju, a samim tim i aktivnost porodice citohroma (CYP) P450 metaboličkih enzima i izoenzima, transmembranskih transportera P-glikoproteina, organskih anjonskih transportnih polipeptida (OATP), ATP-vezujućih kasetnih transportera i tzv. nosača rastvora (solute carrier-SLC). U drugoj fazi jetrenog metabolizma lekova koja obuhvata acetilaciju i glukuronidaciju, uremijski toksini

dovode do indukcije ili inhibicije pojedinih izoenzima i blokade genskog polimorfizma odgovornog za brži ili sporiji fenotip enzimske reakcije (reverzibilno nakon transplantacije bubrega) modifikacijom njihove genske transkripcije, translacije i posttranslacije (272, 273). U HBI sniženje nerenalnog klirensa za pojedine lekove iznosi od 30% do 90% (271). Najvećim delom smanjen je hepatski klirens leka uz signifikantno povećanje njegove bioraspoloživosti (koncentracije) u organizmu, a što za posledicu može imati ispoljavanje neželjenih dejstava leka. Zbog toga je i tokom sprovođenja prevencije tromboza u HBB u cilju postizanja terapijske efikasnosti i prevencije toksičnosti, potrebno poznavanje načina metabolisanja leka, njegove farmakokinetike (bioraspoloživosti, zapreminske distribucije i eliminacija) i doznog prilagođavanja (uzimajući u obzir BMI, JGF, jetreni enzimski kapacitet i stanje jetrenog krvotoka) (274, 275). Na Slici 7. je prikazan zbirni uticaj uremije na metabolizam i transport lekova.



Slika 7. Zbirni uticaj uremije na metabolizam i transport lekova (272)

Prevenција nastanka tromboze vaskularnog pristupa za hemodijalizu je moguća primenom antitrombocitne ili antikoagulantne terapije, koje pored pozitivnih

farmakoloških dejstava, mogu izazvati i komplikacije, pri čemu krvarenje (hematomi, posledična kompresija AVF i njena blokada) predstavlja najozbiljniji klinički problem, zbog čega se njihova upotreba dovodi u pitanje.

9.1. Antikoagulantni lekovi u HBI

Opšte ACCP (American College of Chest Physicians) preporuke za korišćenje antikoagulantnih lekova kod bolesnika sa bolestima bubrega upućuju na proveru bubrežne funkcije pre započinjanja njihove upotrebe, posebno onih čiji se klirens odvija putem bubrega, kod starijih pacijenata, bolesnika sa DM i kod onih sa povećanim rizikom od krvarenja (1A), kao i izbegavanje upotrebe antikoagulanasa čije bi korišćenje dovelo do bioakumulacije pri oštećenoj bubrežnoj funkciji, korišćenje manjih doza, praćenje koncentracije leka i/ili njegovog antikoagulantnog učinka (1B) (276).

9.1.1. Vitamin-K antagonisti (VKA)

Kod bolesnika sa početnim, blagim stadijumom HBB doze VKA nije potrebno redukovati. Varfarin, najčešće upotrebljavan lek iz ove grupe, ispoljava velike dozne razlike među pacijentima, a početne i doze održavanja su pod uticajem brojnih činilaca (ishrane, drugih lekova, genetskih faktori, komorbiditeta, adherencije itd). Primarno se metaboliše preko enzimskog sistema citohrom P-450, čiji se kapacitet u HBI smanjuje, a stepen dozne redukcije u HBB je udružen sa težinom oštećenja bubrežne funkcije. Snižena vrednost plazmatskog odnosa koncentracije S/R varfarinskih izomera u HBI za 50% ukazuje na značajni pad hepatičke aktivnosti enzima CYP2C9 koji je isključivo zadužen za metabolizam (S)-varfarina [(R)-varfarin se metaboliše multiplim CYP i non-CYP enzimskim sistemima]. Pomenuti mehanizam predstavlja razlog za redukciju doze varfarina u HBI (277, 271).

Bolesnicima sa umerenom BI (JGF 30-59 ml/min) neophodna je 10% redukcija početne doze varfarina, dok je kod teške BI (JGF < 30 ml/min) potrebna doza 20% manja u odnosu na bolesnike bez ili sa blagim oštećenjem bubrežne funkcije. Bolesnicima sa izraženijim stadijumom BI potrebno je kraće vreme za postizanje terapijske vrednosti INR (International Normalised Ratio), broj INR kontrola u okviru TTR (total time in therapeutic range) je manji u odnosu na rutinsku kliničku praksu (ciljni TTR je 60-65%), izloženi su većem riziku od krvarenja i prekomernoj hiperkoagulabilnosti (INR>4.0). Bolesti bubrega su udružene sa smanjenom antikoagulantnom stabilnošću, smanjenom uspešnošću lečenja i smanjenom proporcijom kontrola sa ciljnim vrednostima INR (278). Teška, životno ugrožavajuća i fatalna krvarenja su dva i po puta (HR 2.4, 95% CI 1.1-5.3), češća kod bolesnika sa HBI i OAK (oralnom antikoagulantnom terapijom) u poređenju sa blagom HBB (279, 280).

Dodatni problem predstavlja mogućnost razvoja varfarinske (WRN-warfarin related nephropathy) ili antikoagulantno povezane nefropatije (ARN-anticoagulant related nephropathy) ili tzv. »WRN-like« sindroma izazivnih upotrebom i drugih antikoagulansa (dabigatrana). WRN je posledica akutno nastalog oštećenja bubrega zbog glomerularne hemoragije u bolesnika sa već prisutnom lezijom glomerula (tj. u HBB) u odsustvu ili prisustvu izražene hiperkoagulabilnosti (INR 6.0 - 9.0), mada je opisana i u bolesnika bez prethodnog oboljenja bubrega i sa umerenijim povećanjem vrednosti INR (~3.0), kao i u bolesnika sa farmakogenetskim varfarin-senzitivnim profilom (polimorfizam CYP2C9*3). Povećanje INR je u bolesnika sa HBB obično praćeno nedovoljno objašnjenim povećanjem vrednosti serumskog kreatinina i akutizacijom bubrežne bolesti. Biopsija bubrega potvrđuje opstrukciju renalnih tubula eritrocitima, dominantanog mehanizma akutnog bubrežnog oštećenja, nastalog zbog prekomerne upotrebe varfarina ili nekog drugog antikoagulansa. WRN je ireverzibilna i povećava stopu mortaliteta u HBB.

Incidencu je teško odrediti jer se dijagnoza ne oslanja na rezultat biopsije bubrega već na povećanju vrednosti kreatinina unutar nekoliko dana nenormalno povišene vrednosti INR. WNR ukazuje na potrebu za pažljivim praćenjem bubrežne funkcije kod bolesnika na OAK (281, 282, 283).

Kardiovaskularna kalcifikacija indukovana varfarinom može takođe predstavljati komplikaciju dugotrajne upotrebe varfarina u HBB. Javlja se u formi progresivne generalizovane ateroskleroze (medijalna i valvularna) i/ili kalcifikacije (kalcifišuća uremijska arteriolopatija – sindrom vaskularne kalcifikacije, tromboze i nekroze kože), koje značajno povećavaju stopu KV komplikacija i mortaliteta. Pored brojnih faktora rizika koji doprinose kalcifikaciji (životno doba, pol, uremija, inflamacija, poremećaj metabolizma minerala, dijabetes), značajna protektivna uloga u regulisanju depozicije kristala Ca-fosfata pripada GMC sintezom MGP (matrix Gla proteina). MGP je jedan od najvažnijih regulatornih činilaca za prevenciju vaskularne kalcifikacije, posebno u HBB. MGP je vitamin-K zavisni protein (sintetiše ga i hondrociti), koji tek nakon posttranslacione gama-karboksilacije postaje biološki aktivan. Pošto je gama-karboksilacija zavisna od vitamina-K, varfarin svojim antagonističkim delovanjem smanjuje aktivaciju MGP. Kod bolesnika sa TBI prisutna je visoka zastupljenost subkliničkog deficita vitamina K, što je dodatni negativni doprinosi činilac (284). Svoje protektivno dejstvo MGP ostvaruje visokoafinitetnim vezivanjem Ca^{++} , antagonizovanjem stimulišućeg uticaja koštanog morfogenetskog proteina-2 (BMP-2) na mehanizam mineralizacije, formiranjem vezikula matriksa (MVs) – malih vezikula vezanih za membranu koje »pomažu« ćeliji u oslobađanju viška Ca^{++} , dok je na mestima pojačane kalcifikacije detektovan manje-karboksilovan MGP. Polimorfizam MGP gena je negativni prognostički činilac za KVB u HBB i mogući je uzročnik IM u osoba sa niskim rizikom. Potencijalni mehanizam pojačane kalcifikacije u HBB predstavlja i mogućnost

kalCIFikacije GMĆ posredovane vezikulama u uslovima promene ekstracelularne koncentracije Ca^{++} i PO_4^{3-} (285).

9.1.2. Parenteralni antikoagulansi

9.1.2.1. Nefrakcionisani heparin (unfractionated heparin – UFH)

Izlučivanje heparina iz organizma se obavlja na dva načina, kombinacijom početnog brzog mehanizma eliminacije, koji uključuje zasićenje receptora na endotelnim ćelijama i makrofazima, gde se nakon ulaska u ćelije vrši njegova depolimerizacija i desulfuracija i sporog bubrežnog mehanizma. Čestice velike molekulske mase se mnogo brže eliminišu od manjih. U terapijskoj dozi heparin se pretežno izlučuje brzim mehanizmom, a intenzitet i trajanje njegovog dejstva je proporcionalno povećanju doze. Složena kinetika izlučivanja dovodi do nelinearnog antikoagulantnog odgovora primenjenog heparina u terapijskim dozama sa disproportionalnim rastom intenziteta i trajanja njegovog učinka sa porastom doze. Poluživot heparina u plazmi se povećava od 30 min nakon intravenskog bolusa od 25 IU/kg, preko 60 min nakon bolusa od 100 IU/kg, sve do 150 min nakon bolusa od 400 IU/kg (276). U bolesnika sa HBB primena terapijskih doza heparina udružena je sa povećanim rizikom od velikih krvarenja, pa je laboratorijsko praćenje terapijskog učinka UHF neophodno (286, 287). Mehanizam povećanog rizika od krvarenja se zasniva na protektivnom uticaju formiranog kompleksa heparin-AT ili sastavnih heparinskih frakcija različite molekularne mase (MM) na trombocite, sprečavajući njihovu ionako oštećenu agregabilnost u HBB (288). Profilaktička primena UHF u HBI je najčešća i za bolesnika najkomfortnija (289).

9.1.2.2. Heparini male molekulske težine (low molecular weight heparin - LMWH)

S obzirom na značajnu ulogu bubrega u metabolizmu niskomolekulskog heparina, u bolesnika sa HBI njegov klirens je snižen i udružen je sa povećanim rizikom od

krvarenja - prisutan je obrnuto proporcionalni odnosa između klirensa kreatinina i vrednosti anti-Xa, a akumulacija anti-Xa aktivnosti na kraju doznog intervala je proporcionalna pogoršanju bubrežne funkcije. Odnos renalnog klirensa u odnosu na ukupan klirens leka je niži za LMWH sa većom MM, tako da je ukupan klirens niskomolekularnih heparina sa višom MM (Deltaparin-Fragmin® ili Tinzaparin-Innohep®) manje zavisano od bubrežne funkcije u odnosu na niskomolekularne heparine sa nižom MM (Enoxaparin-Lovenox®, Clexane® ili Nadroparin-Fraxiparine®).

Zbog njihove heterogenosti ne može se dati jednostavna dozna sugestija za sve LMWH. Kod bolesnika sa teškom insuficijencijom bubrega preporučeni su sledeći pristupi upotrebe niskomolekularnog heparina:

- evaluacija i reevaluacija bubrežne funkcije pre i tokom primene LMWH;
- evaluacija rizika od krvarenja (koagulacioni laboratorijski testovi, istorija bolesti, konkomitantni lekovi, planirane intervencije);
- ukoliko je opšte stanje bolesnika nestabilno, ako postoji potreba za hitnom intervencijom ili visok rizik od krvarenja koristiti UHF (upotreba UFH može biti brzo zaustavljena, njegov polужivot je kratak, može biti efikasno antagonizovan);
- koristiti LMWH koji ima poznatu farmakokinetiku i dozne šeme;
- dnevnu dozu LMWH podeliti u dve jednake (umesto jednokratnog davanja);
- izbegavati subdoziranje zbog brige od krvarećih komplikacija;
- redovno pratiti anti-Xa aktivnost (učestalost praćenja u zavisnosti od bubrežne funkcije, razvoja kliničke slike i sopstvenog iskustva sa specifičnim lekom, podešavati dozu u ciljnom opsegu);
- u slučaju nemogućnosti praćenja anti-Xa aktivnosti korišćenje LMWH u bolesnika sa teškom bubrežnom insuficijencijom se ne preporučuje (290).

Opšte ACCP preporuke za upotrebu LMWH u bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom:

- odgovarajuće doziranje LMWH u bolesnika sa teškom renalnom insuficijencijom je neizvesno;
- podaci o akumulaciji niskomolekulskih heparina (osim enoxaparina) su limitirani, ali je bioakumulacija moguća čak i tokom primene profilakstičkih doza LMWH;
- u teškoj bubrežnoj insuficijenciji kada je neohodna terapijska hipokoagulabilnost, korišćenjem UFH izbegavaju se problemi udruženi sa oštećenim klirensom LMWH;
- iako nema specifičnog praga CrCl koji rizik od bioakumulacije označava kao klinički signifikantan, CrCl \leq 30 ml/min predstavlja razumnu »cut-off« vrednost;
- ukoliko se koristi LMWH, praćenje anti-Xa aktivnosti i/ili dozna redukcija se mora sprovoditi da bi se izbegla akumulacija leka (291).

9.1.2.3. Oligosaharidi – Fondaparinuks

Fondaparinuks, sintetski sulfatisani pentasaharid, selektivni anti-FXa inhibitor, najvećim delom se eliminiše iz organizma u nepromenjenom obliku preko bubrega, a njegov klirens se smanjuje sa porastom oštećenja bubrežne funkcije. Kod bolesnika sa umerenom BI (JGF>30 ml/min) upotreba Fondaparinuksa nema ograničenja (sniženje doze i laboratorijsko praćenje nije potrebno), mada je akumulacija moguća, jer je klirens smanjen za ~40 %. U slučaju bioakumulacije (koncentracija leka >0.5 µg/ml) potrebno je snižavanje dnevne doze na 1.5 mg (287, 292).

Iako je od strane proizvođača kod svih bolesnika sa CrCl < 50 ml/min preporučeno sniženje doze, vodič ACCP ističe da je Fondaparinuks u profilaktičkim ili terapijskim dozama jedanako siguran kao i istovetno primenjeni UFH/LMWH (293).

Upotreba leka je u skladu sa EMA preporukama kontraindikovana kod bolesnika sa JGF < 20 ml/min, a po FDA kriterijumima sa JGF < 30 ml/min.

S obzirom na jednostavnu i.v. jednokratnu upotrebu, činjenicu da se dozom od 2,5 mg dostiže terapijski učinak meren koncentracijom anti-Xa, da je rizik od HIT ekstremno nizak (za imunološku reakciju HIT antitela i PF-4 kompleksa neophodno je 10-12 saharidnih molekula), Fondaparinuks se uspešno upotrebljava u lečenju HIT II kod dijaliziranih bolesnika (294). Fondaparinux bi mogao da predstavlja racionalno terapijsko rešenje i za prevenciju ishemijskog CVI kod bolesnika sa HBI (prevalenca AF je 7-20 %, a kod starijih 22.5-37 %), s obzirom na brojne nuspojave dugoročne upotrebe OAK, pri čemu treba imati na umu njegov dug poluživot i mogućnost predoziranja, kao i činjenicu da u slučaju velikih krvarenja antidot još uvek nije u kliničkoj primeni (295). Ispitivanja su takođe potvrdila efikasnost upotrebe s.c. Fondaparinuksa 1.5mg/dnevno za sprovođenje kratkoročne trombopofilakse kod visokorizičnih operativnih zahvata (kancer, elektivne ortopedske operacije) u bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom (CrCl 20 – 50 ml/min), kao i uspešnost sprovođenja kratkoročne trombopofilakse korišćenjem iste doze Fondaparinuksa kod starijih bolesnika sa istim stepenom bubrežnog oštećenja (296, 297).

9.2. Novi oralni antikoagulansi (NOAK)

NOAK su alternativa VKA, čija je upotreba odobrena za prevenciju VTE nakon elektivnih artoplastika kuka i kolena, prevenciju CVI kod bolesnika sa nevalvularnom fibrilacijom pretkomora i za lečenje i prevenciju rekurentnih DVT i PTE. U istraživanjima koja su obuhavtila veliki broj ispitanika (RE-MEDY, RE-SONATE; J-ROCKET AF, EINSTEIN; ROCKET AF; ARISTOTLE; RE-LY), potvrđena je slična ili veća efikasnost i sigurnost upotrebe NOAK u poređenju sa VKA. U odnosu na VKA, NOAK ispoljavaju

brže delovanje, imaju kraći poluživot, ne zahtevaju laboratorijsko praćenje, koriste se u fiksnim dozama, ne ispoljavaju interakciju sa hranom ili je sa drugim lekovima ona manja.

Stepen bubrežne ekskrecije tj. eliminacije iz organizma je različit za svaki NOAK, a bioakumulacija povećava rizik od krvarenja (298). Za sada ne postoje pouzdani klinički kriterijumi za procenu rizika krvarenja kod bolesnika sa HBB kod kojih se planira uvođenje antikoagulantne terapije, dok skorovi rizika za krvarenje HAS-BLEED i HEMORR₂HAGES imaju slabu prediktivnu vrednost i ograničenu kliničku upotrebu (299). Kod bolesnika sa blagom i umerenom HBB (CrCl 30-50 ml/min) NOAK su ispoljili efikasnost i sigurnost sličnu VKA, dok je njihova upotreba kod teške HBI udružena sa povećanim rizikom od velikih krvarenja uz napomenu da specifični antidoti, sem idarucizumaba (Praxbind®) antidota Debigatrana (Pradaxa®), još uvek nisu u rutinskoj kliničkoj praksi. Provera bubrežne funkcije pre uvođenja NOAK (i praćenje tokom njihove primene) treba da predstavlja rutinsku praksu, a po preporukama EMA i FDA posebno u bolesnika starijih od 75 godina i sa CrCl < 50 ml/min (300, 301).

9.2.1. Direktni inhibitori trombina

Univalentni direktni trombin inhibitor-Dabigatran (Pradaxa®) se dominantno (85%) eliminiše ranalnim putem, ~80% urinom u nepromenjenom obliku i 20% preko žuči. U bolesnika sa umerenim oštećenjem bubrežne funkcije (CrCL 30-50 ml/min) preporučuje se redukcija dnevne doze, dok se u slučaju CrCl < 30 ml/min ne primenjuje.

Bivalentni direktni trombin inhibitor-Agratroban koji se koristi parenteralno, kod nas nije registrovan. Zahvaljujući jetrenom metabolizmu (65% eliminacija bilijarnom ekskrecijom, a u nepromenjenom obliku 12% nakon 24h), moguća je upotreba u terapiji HIT II u BI, a doza se u slučaju jetrene insuficijencije smanjuje na 25% od početne.

Upotreba rekombinantnog Lepiurudina i Desirudina (bivalentnih derivata hirudina), se zbog dominantnog bubrežnog metabolizma ne preporučuje kod bolesnika sa

BI, dok se za korišćenje Bivlirudina (pripada istoj grupi lekova) čija se proteoliza obavlja u jetri (20% bubrežna ekskrecija) preporučuje 15-50% smanjenje i prilagođavanje doze u odnosu na stepen bubrežnog oštećenja. Nakon korišćenja Lepirudina ispoljavaju se česte imunološke reakcije, pojava antihirudinskih antitela ili anafilakse nakon ponovljene upotrebe (302).

9.2.2. Direktni inhibitori FXa

Ovoj klasi lekova pripadaju preparati iz grupe ksabana.

Rivaroksaban (Xarelto®) – 66% količine leka se razgrađuje jetrenim metabolizmom (od čega se 33% izlučuje hepatobilijarnim putem, a 33% neaktivnog leka se izlučuje putem bubrega), dok se 33% nepromenjene aktivne supstance izlučuje preko bubrega, tako da se 67% ukupne količine leka eliminiše urinom, a 33% fecesom. Kod bolesnika sa $CrCl < 50$ ml/min treba izvršiti redukciju dnevne doze (20 mg → 15 mg), a u slučaju elektivnog operativnog lečenja prekinuti uzimanje leka 48h pre hirurške intervencije. Kod bolesnika sa $CrCl < 15$ ml/min primena leka se ne preporučuje zbog rizika od krvarenja.

Apiksaban (Eliquis®) – 25% doze leka se eliminiše preko bubrega, a 75% fekalnim putem. U slučaju značajno snižene bubrežne funkcije ($CrCl$ 15-29 ml/min) preporučuje se smanjenje doze od 2.5 mg dva puta dnevno, dok se kod bolesnika sa $CrCl < 15$ ml/min upotreba ne preporučuje zbog rizika od krvarenja.

Edoksaban – pretežni deo metabolizma leka se odvija nerenalnim klirensom i zajedno sa apiksabanom predstavlja alternativu drugim antikoagulansima za korišćenje u HBB (303, 304).

9.3. Fibrinolizna terapija

Intravenska tromboliza sa preparatima tPA je efikasana ukoliko je primenjena unutar 4.5 sati od pojave simptoma, a najozbiljniju komplikaciju njene primene je intrakranijalno krvarenje, čija učestalost (u istraživanjima sa malim brojem učesnika) kod bolesnika sa III-IV stadimom HBB nije povećana. Međutim, sama HBB predstavlja negativni prediktorni faktor neuroloških oboljenja, a rizik od CVI u HBB (HR 1.49, CI 95%) i TBI (HR 1.83, CI 95%) je visok (305).

KDOQI vodič (2005) za bolesnike na HD u vezi trombolizne terapije preporučuje individualni pristup. Sigurnost iv. trombolize u V stadijumu HBI sa CVI nije utvrđena, a u slučaju njene primene prethodno treba utvrditi eventualno postojanje produženog aPTT zbog upotrebe heparina tokom HD. U vezi prevencije, skrininga, evaluacije i terapije CVI kod ovih bolesnika se preporučuje pridržavanje smernica AHA vodiča (American Heart Association) (306).

9.4. Antitrombocitni lekovi

Upotreba antitrombocitnih lekova kratkoročno (tokom 12 meseci) prevenira IM, ne smanjuje stopu KV mortaliteta i IVC, povećava incidencu velikih i malih krvarenja u HBB, održava funkcionalnost hemodijaliznog pristupa (AVF/AVG) ali ne i maturaciju i protočnost AVF. Ispoljavanje koristi i/ili štetnosti antitrombocitnih lekova je nezavisno od stadijuma HBB ili od vrste agensa (307). Druge meta analize su ukazale da klopidogrel i GP IIb/IIIa inhibitori kod HBB bolesnika sa ACS (akutni koronarni sindrom) imaju slab ili nikakav učinak na IM, smrtni ishod i koronarnu revaskularizaciju i mogu povećati incidencu velikih krvarenja (308).

9.4.1. Inhibitori ciklooksigenaze-1 (COX-1)

Najčešće primenjivan lek ove grupe je acetil salicilna kiselina-Aspirin®, čija je upotreba u malim dozama (100 mg/dnevno) u prevenciji arterijskih tromboza i ishemijskih bolesti jednako efikasna kao i u višim, ali je udružena sa manjom stopom velikih krvarenja. Korišćenje malih doza aspirina se često preporučuje za primarnu prevenciju KVB bolesnicima sa različitim stadijumima HBB koja je udružena sa DM II (304).

Iako nije potvrđeno da acetil salicilna kiselina poboljšava stopu patentnosti vaskularnog pristupa, njegova upotreba je praktično obavezna u dijaliziranih bolesnika. Kardiovaskularni mortalitet u dijaliziranih je 10 do 12 puta viši nego u zdravoj populaciji, doprinoseći preranoj smrti u >50% slučajeva. Zbog pozitivnog uticaja na smanjenje oksidativnog stresa i zapaljenja, klinički vodič NKF DOQI preporučuje aspirin za prevenciju KVB u HBI uz pažljivo praćenje mogućih neželjenih dejstava, posebno gastrointestinalnih krvarenja (309).

9.4.2. Inhibitori ADP/P2Y₁₂ receptora (tienopiridini i nukleotidni analozi)

Tiklopidin (Ticlodix®) pripada prvoj generacije tienopiridina. Nakon brze intestinalne absorpcije, aktivacija proleka tiklopidina odvija se u jetri uz citohrom P450, a aktivni metaboliti se ireverzibilno vezuju i inhibišu trombocitni receptor P2Y₁₂. Nakon metabolisanja u jetri, lek se izlučuje bilijarno i renalno. Često se koristi kod osoba rezistentnih na aspirin i u slučaju potrebe za primenu dvojne antitrombotične terapije. Zbog neželjenih nuspojava (trombozna trombocitopenična purpura i neutropenija), njegova upotreba je smanjena. Kratkotrajno korišćenje (4 nedelje) sa acetil salicilna kiselina u bolesnika sa HBI nakon ugradnje stenta u koronarne krvne sudove nije ukazalo na štetnost i neželjene nuspojave (310), dok je u istoj kombinaciji nakon uni- ili bilateralne ugradnje stenta u a.renalis zbog renalne hipoksije izazvane arterijskom okluzijom, ispoljio

doprinosni učinak na stabilizaciju bubrežne funkcije (311). Tiklopidin je takođe korišćen i za prevenciju okluzije AVF i AVG (312).

Reverzibilni inhibitor ADP receptora klopidogrel (Plavix®), predstavnik druge generacije tienopiridina, metabolše se u jetri, uz podjednaku renalnu i bilijarnu ekskreciju. Primenjen uz standardnu terapiju u grupi bolesnika sa nestabilnom AP sa blago do umereno sniženom JGF, minimalno snižava absolutni i relativni rizik od IM, CVI i KV-smrtnost, ali signifikantno povećava rizik od velikih krvarenja (313). Kod bolesnika sa dijabetesnom nefropatijom, izostanak povoljnog učinka klopidogrela na smanjenje KV rizika može se objasniti prisustvom rezistencije na ovaj lek, posebno u III i IV stadijumu HBB. Samo prisustvo trombocitne rezistencije na klopidogrel u HBB predstavlja loš prognostički činilac (314).

Drugi tienopiridinski lek prasugrel (Efient®), pripada trećoj generaciji tienopiridina, ima izraženije antitrombocitni učinak od klopidogrela i brz serumski i intestinalni metabolizam, a neaktivni metaboliti se izlučuju urinom (68%) i fecesom (27%). Kod bolesnika sa ACS i težim stadijumima HBB je efikasniji u snižavanju rizika od neželjenih ishemijskih ishoda (od klopidogrela), ali sa jednako ispoljenim rizikom od krvarenja (315).

Reverzibilni direktni blokator purinergičkih P2Y₁₂ receptora tikagrelor (Brilique®) je analog nukleozida (trazolopirimidin), koji se metaboliše u jetri uz bilijarnu ekskreciju. Za razliku od klopidogrela nije pro-lek i ne zahteva metaboličku aktivaciju (316). Jednogodišnje korišćenje tikagrelora u bolesnika sa ACS i sa III i IV stadijumom HBB, imalo je bolji efekat na ukupno sniženje KV-smrtnosti, IM i CVI u odnosu na klopidogrel, mada je isti učinak tikagrelora prisutan i u bolesnika sa ACS ali bez HBB. Ovakav nalaz favorizuje korišćenje tikagrelora kod bolesnika sa III i IV stadijumom HBB, ali ne i kod bolesnika sa ACS i normalnom JGF, jer je kod njih efikasnost ista sa

klopidogreom. Specifičan antitrombotični učinak tikagrelora u težim stadijumima HBB još nije do kraja objašnjen (igra slučaja, inhibicija preuzimanja oslobođenog ADP-a od strane eritrocita, različita korist intenzivirane inhibicije trombocita u bolesnika sa različitim profilima rizika) (317). Zvanični vodič ističe da dozu leka nije potrebno prilagođavati kod starijih bolesnika (<75 god), pacijentata sa oštećenjem bubrega i blagim oštećenjem jetre, a korišćenje u bolesnika sa umereno/teško oštećenom bubrežnom funkcijom se savetuje uz mere opreza. Upotreba tikagrelora je kontraindikovana kod bolesnika na dijalizi, kod bolesnika sa hiperurikemijom ili uričnim artritismom (giht) i nefropatijom izazvanom mokraćnom kiselinom (povećan nivo mokraćne kiseline u urinu).

9.4.3. Inhibitori GP IIb/IIIa receptora

Antagonisti GP IIb/IIIa sprečavaju vezivanje fibrinogena za GP receptore na površini aktivisanih trombocita i na taj način sprečavaju njihovu agregaciju i formiranje krvnog ugruška. Koriste se tokom perkutanih koronarnih intervencija (PCI) u cilju smanjenja rizika od ishemijskih komplikacija. Njihova upotreba je udružena sa povećanim rizikom od krvarenja, a smanjena bubrežna funkcija prisutna u ~30% bolesnika kod kojih se izvodi PCI povećava pomenuti rizik, pa su bolesnici sa nižim vrednostima CrCl u većini istraživanja isključeni. Sa mogućim doznim prilagođavanjem, snižena funkcija bubrega ne predstavlja kontraindikaciju za primenu inhibitora GPR IIb/IIIa (318).

Abciximab (ReoPro®) je veliko monoklonalno antitelo (Fab fragment) koje se nekompetitivno i sa velikim afinitetom vezuje za GP IIb/IIIa. Metaboliše se u slezini, eliminacija je vanrenalna. Rezultat kratkotrajne iv. primene je prolongirana inhibicija trombocita sa postepenim oporavkom receptorske blokade. U HBI ne ispoljava doznu zavisnot.

Tirofiban (Aggrastat®) je niskomolekularno jedinjenje koje kompetitivno inhibiše GP IIb/IIIa receptor. Visoko je specifičan, ali sa niskom afinitetom. Poluživot leka u

palzmi iznosi oko 1.5h, podleže bubrežnoj (60% bubrežni klirens) i nerenalnoj ekskreciji, zbog čega se kod bolesnika sa renalnom insuficijencijom ($CrCl < 30$ ml/min) mora izvršiti dozno prilagođavanje.

Eptifibrat (Integrilin®) je niskomolekularni preparat koji kompetitivno kratkotrajno blokira GP IIb/IIIa receptor uz produžen plazmatski poluživot (~2.5h). Metabolizam obuhvata 50% renalnu ekskreciju, pa se pri $CrCl < 50$ ml/min vrši smanjenje doze leka (319).

9.4.4. Inhibitori fosfodiesteraze

Dipiridamol (Persantin®) ostvaruje učinak inhibicijom metabolizma i preuzimanja adenzina u trombocitima, EĆ i eritrocitima. Povećana koncentracija adenzina na površini trombocita stimuliše ćelijsku adenil ciklazu, povećava se koncentracija cAMP, koja smanjuje reaktivnost trombocita snižavanjem citoplazmatskog Ca^{++} čime se blokiraju medijatori uključeni u aktivaciju trombocita - trombocitni aktivirajući faktor (PAF), kolagen i ADP. Dovodi takođe do stimulacije sinteze prostaciklina i pojačava njihov antitrombocitni učinak. Dipiridamol inhibiše i cikličnu gvanozinmonofosfat-fosfodiesterazu (cGMP-PDE) što uvećava koncentraciju cGMP koji sprečava aktivaciju i agregaciju trombocita [NO takođe povećava cGMP stimulacijom solubilne gvanilat ciklaze (sGC), enzima koji pripada signalnoj kaskadi G proteina i koji uvećava sintezu cGMP]. Dipiridamol produžava život trombocita u bolesnika sa veštačkim zaliscima koji ih mehanički oštećuju. Stimulacijom sinteze NO u EĆ i inhibicijom ponovnog preuzimanja ADP u GMĆ, dovodi do vazodilatacije koronarnih krvnih sudova i povećanog krvnog protoka, dok iv. administracijom snižava krvni pritisak (KP) dilatacijom sistemske cirkulacije, uz povišenje kardijalnog output-a. Zbog vazodilatatornog dejstva koristi se kod bolesnika sa anginom pectoris (AP) i u sekundarnoj prevenciji IM, nakon koronarnog premošćavanja i koronarne angioplastike, nakon ugradnje veštačkih

srčanih zalizaka, DVT, PE i TIA, a u kombinaciji sa acetilsalicilnom kiselinom za sekundarnu prevenciju CVI. Inhibicijom sinteze proinflammatoryh citokina (monocitni hemoatraktantni protein-1, MCP-1 i MMP-9) deluje antiinflamatorno, a inhibicijom proliferacije GMCĆ stimuliše patentnost AVG. Vredno je pomenuti i antioksidantni učinak dipiridamola neutralizacijom ROS u trombocitima i EĆ (supresijom inflamatornog signalnog NF-κB sistema i aktivacijom redoks kapaciteta).

Metaboliše se u jetri, izlučuje putem žuči, a u manjoj meri i urinom tako da se u bolesnika sa HBB može koristiti bez ograničenja uz oprez od krvaraćih komplikacija (320, 321, 322).

10. MEDIKAMENTOZNA PREVENCIJA TROMBOZE ARTERIOVENSKE FISTULE ZA HEMODIJALIZU

U našoj zemlji je prema podacima Udruženja nefrologa Srbije na kraju 2013. godine u 62 centara za dijalizu, metodama za zamenu funkcije bubrega lečeno je 5651 bolesnika [3374 muškaraca (59.7%), prosečne starosti 58.1 ± 14.3 i 2277 žena (40.29%), prosečne starosti 57.0 ± 14.5 godina), što je 4.4% više u odnosu na 2012. godinu. Od ukupnog broja, njih 76% se lečilo hemodijalizama, a tokom 2013. godine 992 bolesnika je započelo lečenje nekom od metoda zemene bubrežne funkcije (za 108 više nego u 2012 godini). Njihova prevalenca je 2013. godine bila 839.1 bolesnika na milion stanovnika (87 bolesnika/milon stanovnika više nego prethodne godine), što RS svrstava ispod evropskih zemalja (Austrija, Belgija, Francusaka, Grčka, Slovenija) koje su 2013. imali prevalencu iznad 1000. U 2012. godini prevalenca u SAD je iznosila 1945, Tajvanu 2902.1, Japanu 2365.5, a najmanja u Ukrajini 131.3 (pmp). Incidenca 2013. godine iznosi 147.3. Broj umrlih bolesnika lečenih metodama zamene bubrežne funkcije u 2013. godini je 729 (tendencija pada u poređenju sa prethodnim godinama).

Decembra iste godine 4066 bolesnika (89.5%) je imalo nativnu AVF, vaskularni graft 127 (2.8%), a njih 145 (3.2%) vaskularni kateter. Posmatrajući trend tokom poslednjih godina, uočava se da su AVF prioritet i standard u vaskularnim pristupima u našoj zemlji, uprkos nepovoljnoj strukturi bolesnika i porastu incidence starije populacije i obolelih od hipertenzije i deijabetesa. Ovakvi statistički pokazatelji svrstavaju Srbiju u krug zemalja sa najvišim procentom zastupljenosti AVF kod hemodijaliziranih, zajedno sa Rusijom (92%), Japanom (91%), Kinom (87%), Turskom (87%), Australijom i Novim Zelandom (82%) (41).

Efikasna hemodijaliza u bolesnika sa HBI je moguća jedino ako je vaskularni pristup za hemodijalizu funkcionalan.

Farmakološki pristup prevencije tromboze AVF, koja je najčešći razlog njene disfunkcije, najčešće se oslanja na kratkotrajnu upotrebu antitrombocitnih lekova acetilsalicilne kiseline, klopidogrela i tiklopidina, pojedinačno ili međusobno kombinovanih, ili korišćenih sa dipiridamolom ili ribljim uljem tj. Ω 3 MK. Saznanja o učinku oralnih antikoagulanasa su oskudna. Iskustva upotrebe varfarina su ograničena pratećim krvarećim komplikacijama u bolesnika sa AVG ili CVK, dok su iskustva učinka parenteralnih antikoagulantnih lekova UFH i LMWH na patentnost AVF, praćena manjkom detaljnih saopštenja, koja se najvećim delom odnose ili na njihovu intraoperativnu administraciju, korišćenje u kombinaciji sa drugim lekovima, korišćenje u pedijatrijskoj populaciji ili na komplikacije, uz uopštenu indirektnu potvrdu povoljnog delovanja u prevenciji tromboze AVF.

Zbog etioloških (komorbitetnih) uzročnika HBB i zbog njihovog lečenja, treba pomenuti i učinak drugih lekova koji su u kliničkim ispitivanjima pokazali uticaj na patentnost vaskularnog pristupa za hemodijalizu: sulfinpirazona, statina, blokatora Ca^{++} kanala, folne kiseline i ACE inhibitora.

Međutim sva do sada izvedena ispitivanja u kojima se navode i pozitivni efekti upotrebe navedenih grupa lekova u smanjenju učestalosti rane tromboze u novoformiranim AVF kao i njihova neželjna dejstva, nisu dovele do toga da neko od relevantnih udruženja (International Society of Nephrology, European Best Practice Guidelines, National Kidney Foundation KDOQI, UK Renal Association, Canadian Society of Nephrology), izda preporuku u vezi sa primenom pomenute terapije uz konstataciju da povoljan uticaj dugoročne primene antikoagulantnih i/ili antitrombocitnih lekova na vremensku dužinu patentnosti hemodijaliznog vaskularnog pristupa do sada nije potvrđen (323).

Detaljni pregled literature o upotrebi antikoagulantnih/antitrombocitnih lekova u cilju poboljšanja patentnosti (funkcionalnosti) AVF, učvršćuje utisak da su stručna

mišljenja podeljena i da su neohodna dalja ispitivanja u cilju utvrđivanja njihove efikasnosti i pouzdanosti.

Sa sigurnošću se može zaključiti da razumna upotreba antitrombotika u bolesnika sa AVF može biti korisna u prevenciji njene okluzije i zbog toga od pomoći u dugoročnosti njene patentnosti bez signifikantnog rizika od krvarenja

11. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA

S obzirom na činjanicu da je u svakodnevnom kliničkom radu otežana potvrda tromboznog procesa kreirane AVF i utvrđivanje prisustva drugih uzroka njene nefunkcionalnosti (nakon isključenja hirurških peri/postoperativnih komplikacija nastalih unutar 24h), u ovom radu smo pošli od saznanja da je tokom prvih 6 nedelja od kreiranja AV fistule dominantan uzrok nefunkcionalnosti bio trombozni proces, a da bismo istakli uticaj drugih mogućih patofizioloških mehanizama, u daljem tekstu ćemo koristiti termin rana tromboza/afunkcionalnost za sve dijagnostikovane nefunkcionalne AV fistule.

Ipitivanje uticaja različitih antitromboznih lekova na prevenciju nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti arteriovenskih fistula za hemodijalizu kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom imalo je sledeće ciljeve:

- Proceniti efikasnost primenjenih antitromboznih lekova u prevenciji nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti AVF za hemodijalizu za vreme njene matuarcije unutar 6 nedelja od kreiranja u bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom;
- Ispitati nivo biomarkera pokazatelja endotelne aktivacije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema i markere trombofilije u bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom pre kreiranja AVF u cilju dopune uzroka nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti arteriovenskih fistula za hemodijalizu;
- Ispitati učestalost trombofilije i njen uticaj na funkcionalnost AVF i uporediti efikasnost primenjenih preventivnih režima između bolesnika sa i bez trombofilije;

Pretpostavke na kojima se zasniva istraživanje su:

- Preventivna primena antitromboznih lekova će smanjiti učestalost pojave rane tromboze i primarno nefunkcionalnih AVF za hemodijalizu tokom njene maturacije, a

primena s.c. heparina male molekulske težine u prevenciji rane tromboze arteriovenskih fistula u bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom će biti uspješnija od oralne primene antitrombocitnog leka;

- Kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom isuficijencijom prisutan je značajan poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema koji doprinosi nastanku tromboznih komplikacija AVF za hemodijalizu;

- Bolesnici sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom koji imaju trombofiliju imaju povećan rizik za nastanak rane tromboze/afunkcionalnosti AVF;

12. MATERIJAL I METODE ISPITIVANJA

12.1. Ispitanici, konstrukcija i način izbora uzorka

Ispitivanje je sprovedeno od juna 2011. godine do aprila 2016. godine u Centru za laboratorijsku medicinu u saradnji sa Klinikom za nefrologiju i kliničku imunologiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu.

U ispitivanje su uključene osobe oba pola sa prethodno postavljenom dijagnozom terminalne bubrežne insuficijencije kod kojih nisu postojale kontraindikacije za planirno hirurško kreiranje prvog stalnog vaskularnog pristupa za hemodijalizu u vidu autologne arteriovenske fistule (AAVF).

Primenjeni kriterijumi za isključenje iz istraživanja su: životno doba mlađe od 18 godina, odbijanje ispitanika da potpiše pristanak informisanog ispitanika ili povlačenje saglasnosti za učešće u studiji, trudnoća, pridruženo maligno oboljenje koje nije uzrok HBI, bolesti jetre, akutne komplikacije dijabetes melitusa, kliničko-laboratorijski znaci manifestnog zapaljenja, duševne bolesti, stanja i bolesti koje predstavljaju kontraindikaciju za korišćenje antitromboznih lekova.

Nakon hirurškog kreiranja radiocefalične arteriovenske fistule u distalnoj trećini podlaktice nedominantne ruke (89/121), intermedijalne (4/121) ili proksimalne (28/121) AAVF u studiju je uključen 121 ispitanik tako što je od ukupno 146 bolesnika iz istraživanja isključeno njih 25. Među 121 ispitanikom bilo je 41 žena i 80 muškarca. Najmlađi učesnik ispitivanja je imao 21, a najstariji 83 godine.

U cilju procene uticaja različitih antitromboznih lekova na sprečavanje nastanka rane tromboze fistula za hemodijalizu kod bolesnika sa HBI ispitanici su podeljeni u 3 grupe:

- I Grupa od 40 ispitanika koji nakon kreiranja AAVF nisu dobijali antitromboznu terapiju;

- II Grupa od 42 ispitanika kod kojih je dan nakon kreiranja AAVF započeta primena antitrombotnog leka tokom perioda njenog sazrevanja od 6 nedelja;
- III Grupa od 39 ispitanika kod kojih je dan nakon kreiranja AAVF započeta subkutana primena antikoagulantnog leka niskomolekularnog heparina tokom perioda njenog sazrevanja od 6 nedelja;

Kriterijum za utvrđivanje ishoda uticaja antitrombozne terapije predstavlja maturacija AVF koja je definisana kao uspešna ako je započeto sprovođenje efikasne hemodijalize najranije 6 nedelja nakon njenog hirurškog kreiranja, po proceni nadležnog nefrologa, u skladu sa definicijom The North Vascular Access Consortium (324).

Rana tromboza AVF je definisana kao patološki supstrat koji se razvija i dovodi do njene afunkcionalnosti tokom maturacije u periodu do 6 nedelja nakon kreiranja, nastao istovremenim delovanjem više mehanizama.

Dijagnoza prisustva tromboze AVF postavljena je od strane nadležnog vaskularnog hirurga/nefrologa fizikalnim pregledom tokom njene maturacije, koji je podrazumevao inspekciju, palpatorno utvrđivanje odsustva karakterističnog trila i auskultatornih karakteristika protočnosti AVF ili ultrasonografskim pregledom od strane radiologa kada je to bilo izvodljivo odzivom ispitanika na zakazani pregled. Takva AVF je klasifikovana kao primarno trombozirana i zbog toga afunkcionalna (325, 326).

12.2. Tok ispitivanja

Svakom bolesniku je pre uključivanja u ispitivanje detaljno objašnjen cilj istraživanja, proces dijagnostičke obrade i njegovo učešće u njemu. Saglasnost za učešće u studiji bolesnici su overavali svojim potpisom nakon pročitanoog teksta za informisanje pacijenta.

Na početku ispitivanja, nakon uzimanja anamnestičkih podataka sa naglaskom na ličnu anamnezu u pogledu početka i prepoznatog uzroka bolesti bubrega, udruženih bolesti i faktora rizika za nastanak arterijskih i venskih tromboza, na porodičnu anamnezu koja se prvenstveno odnosila na trombozne incidente i podataka o lekovima koje koriste, ispitanici su podvrgnuti merenju telesne visine, telesne mase i arterijskog krvnog pritiska.

Na osnovu anamnestičkih podataka, podataka iz istorije bolesti i druge medicinske dokumentacije, eliminisali su se oni bolesnici koji ne odgovaraju u potpunosti kriterijumima za uključivanje i ispitivanje.

Jednokratno određivanje laboratorijskih parametara pokazatelja bubrežne funkcije, metabolizma glukoze i hroničnog zapaljenja, funkcionalnosti hemostaznog sistema, trombofilnih markera i genskog polimorfizma vršeno je unutar dve nedelje pre hirurškog kreiranja AAVF.

Indikacija za kreiranje fistule je postavljena od strane lekara nefrologa, na osnovu kriterijuma $JGF < 20 \text{ ml/min/1.73m}^2$.

Lokalizacija AVF je određivana od strane vaskularnog hirurga na osnovu kliničkog i ultrazvučnog pregleda arterija i vena ruku kolor dupleks sken metodom na predilekcionim mestima za njeno kreiranje. Kreiranje arteriovenskih fistula u distalnoj trećini podlaktice nedominantne ruke obavljeno je uz pridržavanje preporučenog kriterijuma koji se odnosi na najmanji unutrašnji dijametar arterije $\geq 2.0 \text{ mm}$ i vene $\geq 2.5 \text{ mm}$, formiranjem latero-terminalne anastomoze između a.radialis i v.cephalicae u lokalnoj anesteziji kod svih ispitanika od strane istog tima vaskularnih hiruga (327, 328).

12.3. Metode

U cilju procene funkcionalnog statusa bubrega određivani su:

1. serumska koncentracija kreatinina
2. serumska koncentracija uree

3. serumska koncentracija mokraćne kiseline (acidum uricum)

4. JGF (ml/min/1.73 m²) procenjivana na osnovu MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) jednačine izvedene iz serumske koncentracije kreatinina

U cilju procene funkcionalnosti hemostaznog sistema izvršeno ja laboratorijsko određivanje sledećih parametra:

1. aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme (aPTT)

2. protrombinsko vreme (PT)

3. trombinsko vreme (TT)

4. fibrinogen (Fbg)

5. D dimer

6. euglobulinsko vreme lize koaguluma (ECLT)

7. von Willebrand-ov faktor aktivnost i antigen (vWF Act, vWF Ag)

8. faktori koagulacije II, VII, X, VIII, IX, XI, XII

9. aktivatori plazminogena (aPL)

10. inhibitor plazmina (PI) – α_2 antiplazmin

11. agregabilnost trombocita: u bazalnim uslovima-TRAP (thrombin receptor associated peptide) test, i uz agoniste ADP (adenozin-di-fosfat), ASPI (arahidonska kiselina) i Collagen (koagen)

U cilju procene prisustva trombofilnog stanja određivani su:

1. lupusni antikoagulans (LA)

2. antikardiolipinska antitela klase IgG i IgM (ACL IgG, IgM)

3. anti β_2 glikoprotein I antitela klase IgG i IgM (anti β_2 GPI IgG, IgM)

4. antitrombin (AT)

5. protein C (PC)

6. slobodni protein S (fPS)
7. rezistencija na aktivisani protein C (APC-R)
8. detekcija mutacije FII G201210A, FV G1691A (FV Leiden)

Kod svih ispitanika takođe je određivana:

1. kompletna krvna slika (KKS)
2. serumska koncentracija glukoze (Glu)
3. nivo hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c})
4. C-reaktivni protein (CRP)
5. plazmatska koncentracija homocisteina (Hcy)
6. serumska koncentracija holesterola (Hol)
7. serumska koncentracija triglicerida (Tgl)
8. serumska koncentracija HDL
9. serumska koncentracija LDL

Uzorci krvi za ispitivanje su dobijeni punkcijom kubitalne vene, nakon dvanaestočasovnog gladovanja u ranim jutarnjim satima, uz korišćenje vakutajnera (vakumepruveta) sa odgovarajućim antikoagulansima, dikalijum-etilen-diamino-tetra-sirćetnom kiselinom (K₂-EDTA) za određivanje KKS, HbA_{1c}, FII G20210A i FV G1691A; potom sa 3,8% trinatrijum citratom (Na₃C₆H₅O₇) u odnosu 1:9 za određivanje aPTT, PT, TT, Fbg, ECLT, vWFAct, vWFAg, D dimera, F II, VII, VIII, IX, X, XI, XII, aPL, PI, LA, AT, PC, PS, PC i APC-R; serumskih vakutajnera bez antikoagulansa za određivanje kreatinina, uree, mokraćne kiseline, CRP, holesterola, triglicerida, HDL i LDL; specijalizovanih vakutajnera sa litijum heparinom kao antikoagulansom za određivanje agregabilnosti trombocita ili (transportovanim na ledu) za određivanje homocisteina i

vakutajnera bez antikoagulantnog sredstva sa separacionim gelom za razdvajanje krvnih ćelija od seruma i fibrina za održavanje ACL IgG, IgM i anti β_2 GPI IgG, IgM.

Uzorci plazme dobijeni centrifugiranjem odgovarajućih vakutajnera uz hlađenje na 4000 obrtaja/min tokom 6 min za određivanje koncentracija vWF_{Ag}, vWF_{Act}, F II, VII, VIII, IX, X, XI, XII, PI, PC, PS i APC-R su zamrzavani na -200C do izvođenja laboratorijskih analiza u okviru do dve nedelje, dok su ostali navedeni laboratorijski pokazatelji određivani odmah nakon uzorkovanja.

Određivanje parametara hemostaznog sistema vršeno je u laboratoriji Odeljenja za trombozu, hemostazu i hematološku dijagnostiku Centra za laboratorijsku medicinu KCV.

Kompletna krvna slika je određivana kvantitativno pomoću automatizovanog hematološkog brojača CELL-DYN Sapphire, proizvođača Abbott Diagnostics USA, do polovine aprila 2015. godine, a nakon tog perioda do kraja istraživanja na aparatu PENTRA XLR 80, proizvođača ABX HORIBA medical, metodom protočne citometrije uz korišćenje komercijalnih setova istih firmi.

Parametri za procenu funkcionalnosti koagulacionog sistema: aPTT, PT, TT, Fbg, vWF_{Act}, vWF_{Ag}, F II, VII, X, VIII, IX, XI, XII, LA, AT, PC, PS, APC-R izvedeni su delom (do januara 2013. godine) korišćenjem automatizovanog koagulometra ACL-TOP 500 CTS, proizvođača Instrumentation Laboratory (Bedford, Massachusetts USA), a od februara 2013. godine do kraja istraživanja pomoću automatizovanog koagulometra SIEMENS BCS-XP, proizvođača Dade Behring (Marburg, Germany). Određivanje D dimera je tokom istraživanja vršeno isključivo na automatizovanom koagulometru ACL-TOP 500 CTS.

Aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme, protrombinsko vreme i trombinsko vreme su određivani koagulacionom metodom IL-ovim reagensima na aparatu ACL-TOP 500 ili na aparatu SIEMENS BCS-XP primenom komercijalnih reagenasa iste firme.

Rezultati aPTT-a, PT i TT izražavani su kao odnos (R - ratio), dobijen deljenjem rezultata ispitivanog uzorka plazme izraženog u sekundama sa rezultatom komercijalne kontrolne plazme takođe izraženom u sekundama. Referentne vrednosti za aPTT: R=0.83-1.3; za PT: R=0.83-1.3; za TT: R=0.85-1.5.

Kvantitativno određivanje *fibrinogena* vršeno je koagulacionim metodom po Clausu, na analizatorima ACL-TOP 500 ili SIEMENS BCS-XP uz korišćenje komercijalnih setova navedenih firmi. Referentna vrednost fibrinogena: 2.20-4.96 g/L.

D dimer se određivao kvantitativno Latex-Immunoasay metodologijom uz korišćenje IL-ovih reagenasa na aparatu ACL-TOP 500 CTS. Referentna vrednost D dimera: do 240 ng/mL.

Kvantitativno određivanje *aktivnosti von Willebrand-ovog faktora (vWFact)* i *antigena von Willebrand-ovog faktora (vWFAg)* vršeno je imunoturbidimetrijskim Latex-Immunoasay metodologijom uz korišćenje IL-ovih ili SIEMENS-ovih reagenasa. Referentne vrednosti za vWFact: (ACL 42-148%, SIEMENS 47.8%-173.2%) , a za vWFAg (ACL 50-140%, SIEMENS 57.3-173.1%).

Kvantitativno određivanje faktora koagulacije vršeno je na aparatu ACL-TOP 500, koagulacionom metodom izvođenjem modifikovanog aPTT testa korišćenjem reagenasa HemosIL SP Liquid za *F VIII, IX, XI, XII* i modifikovanog PT testa uz reagens RecombiPlasTin 2G za *F II, VII, X*, a na aparatu SIEMENS BCS-XP istim principom uz korišćenje reagenasa Pathromtin SL za *F VIII, IX, XI, XII* i reagenasa Innovin za *F II, VII, X*. Referentne vrednosti: F II (ACL 79 – 131 % , SIEMENS 70 – 120%), F VII (ACL 50 – 129 % , SIEMENS 70 – 140%), F X (ACL 77 – 131 % , SIEMENS 70 – 120%), F VIII (ACL 50 – 150 % , SIEMENS 70 – 150%), F IX (ACL 65 – 150 % , SIEMENS 70 – 120%), F XI (ACL 65 – 150 % , SIEMENS 70 – 120%), F XII (ACL 50 – 150 % , SIEMENS 70 – 150%).

Lupusni antikoagulans se određivao koagulacionom metodom po preporuci ISTH SSC (International Society on Thrombosis and Haemostasis Standardisation Scientific Comitee) - screening testom, testom korekcije i testom potvrđivanja, reagensima LA1 i LA2 proizvođača IL i reagensima SCT screen i SCT confirm istog proizvođača koagulometrom ACL- TOP 500 kao i odgovarajućim Simensovim reagensima na aparatu SIEMENS BCS-XP. Konačan rezultata se izražava kao normalizovan LA odnos: R> 2.0 LA izrazito pozitivan; R= 1.5-2.0 LA pozitivan; R= 1.2-1.5 LA slabo (ili granično) pozitivan.

Nivo *antitrombina* i *proteina C* u plazmi određivao se automatski sa hromogenim substratom na aparatu ACL- TOP 500 korišćenjem odgovarajućeg reagensa HemosIL Antithrombin seta i HemosIL Protein C seta, odnosno reagensa Berichrom AT III i Berichrom protein C za aparat SIEMENS BCS-XP. Referentne vrednosti AT: ACL 75-112%, SIEMENS 79.4%-112% ; referentne vrednosti PC: 70% -140%.

Protein S se određivao kvantitativno imuno-turbidimetrijskom metodom korišćenjem IL-ovog reagensa HemosIL Free Protein S set na aparatu ACL-TOP 500, ili reagensa InnovanceFree PS Ag test set ako je korišćen aparat SIEMENS BCS-XP. Referentne vrednosti ACL muškarci: 74.1-146.1%, žene: 54.7-123.7%; SIEMENS muškarci 67.5-139 %, žene 60.1-113.6 % .

Rezistencija na aktivisani protein C ispitivala se koagulacionom metodom, na aparatu ACL-TOP 500 izvođenjem modifikovanog aPTT testa uz reagens HemosIL, ili na aparatu SIEMENS BCS-XP uz ProC AcR esej. Referentne vrednosti, ACL-TOP 500, APC-R>2.45, SIEMENS BCS-XP, APC-R >2.0.

Nivo *inhibitora plazmina* (α_2 *antiplazmina*) određivan je automatski sa hromogenim substratom na aparatu ACL-TOP 500 korišćenjem HemosIL Plasmin

Inhibitor seta istog proizvođača ili na aparatu SIEMENS BCS-XP sa Berichrom α_2 -antiplazmin test setom. Referentne vrednosti ACL:89.3% -112.1%, SIEMENS: 80% -120%.

Euglobulinsko vreme lize koaguluma je određivano manuelno, nakon izdvajanja euglobulinske frakcije plazme precipitacijom i njenim rastvaranjem u mešavini borne kiseline i natrijumbortaborata. Dodatkom jona Ca^{++} nastaje koagulum koji sadrži sve činioce fibrinoliznog sistema izuzev inhibitora. Inkubacijom koaguluma na $37^{\circ}C$ meri se vreme njegove potpune razgradnje. Referentne vrednosti: 120-240 minuta.

Aktivatori plazminogena određivani su manuelno istovetnim laboratorijskim postupkom određivanja ECLT, osim što je koncentracija sirćetne kiseline za izdvajanje euglobulinske frakcije kojom se precipitiraju belančevine različita. Referentne vrednosti: muškarci: 9.97-12.93 jed.urokinaze, žene: 9.52-11.98 jed.urokinaze.

Agregabilnost trombocita je procenjivana korišćenjem aparata MULTIPLATE Dynabyte whole blood impedance platelet aggregometer (Munich, Germany), kojim se agregabilnosti trombocita određuje merenjem impedance između elektroda uronjenih u uzorak pune krvi sa dodavanjem različitih induktora: 20 μ L TRAP (trombin receptor aktivirajući peptid) test reagensa, 20 μ L ADP (0.2 mM ADP) test reagensa, 20 μ L ASPI (15 mM arahidonske kiseline) test reagensa, ili kolgena COL (kolagen) test reagensa. Referentne vrednosti: TRAP 92-151 U, ADP 55-117 U, ASPI 79-141 U, kolagen 61-108 U. Tokom ove studije u rad Centra za laboratorijsku medicinu Kliničkog centra Vojvodine kao nove uvedene su analize procene agregabilnosti trombocita iz pune krvi.

U Laboratoriji za imunološke analize Klinike za nefrologiju i kliničku imunologiju KCV detekcija postojanje antifosfolipidnih antitela *antikardiolipinskih IgG i IgM* i *anti β_2 GPI IgG i IgM* vršena je ELISA metodom komercijalnim kitovima proizvođača Euroimmun, Nemačka. Referentne vrednosti: ACL IgG, IgM < 12 U/ml; anti β_2 GPI IgG i IgM < 20 U/ml.

U Laboratoriji za DNK anлізу, Centra za sudsku medicinu, toksikologiju i molekularnu genetiku KCV, DNK svakog uzorka dobijena je iz isečka krvne mrlje primenom helirajućeg agensa Chelex[®]- 100 (BioRad Laboratories, Hercules, USA) i hidrolizim proteina uz proteinazu K (Qiagen, Hilden, Germany), nakon čega je, uz prethodnu laboratorijsku pripremu i izlaganjem na temperaturi od 100°C vršeno razaranje ćelijskih membrana, denaturacija proteina i kidanje vodoničnih veza između komplementarnih lanaca DNK čiji rastvor je korišćen za ispitivanje prisustva mutiranih alela PCR tehnikom. Genetska verifikacija point-mutacija gena za sintezu *FKII G20210A* i *FKV G1691A* je određivana metodom alelske diskriminacije gde se u toku PCR reakcije detektuju dve varijante ispitivane sekvence DNK-normalna i mutirana. Tokom PCR reakcije fluorescentno obeležene probe (jednolančane sekvence DNK koje se vezuju za komplementarnu sekvencu native DNK nakon denaturacije), vezuju se za jednolančanu - denaturisanu DNK. Fluorescentni obeleživač za mutirani i normalni alel se razlikuju. Razgradnja hibridizovane probe oslobađa određenu količinu fluorescentne boje u uzorku koji se očitava u sistemu ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster city, USA), koji predstavlja Real Time PCR instrument. Nalazi su označeni kao: homozigot za normalni alel (fiziološki); heterozigot i homozigot za mutirani alel (patološki).

U Odeljenju za kliničku biohemiju i Odeljenju za specijalizovanu laboratorijsku dijagnostiku Centra za laboratorijsku medicinu KCV su u cilju procene funkcionalnosti bubrega određivani *kretainin*, *urea* i *mokraćna kiselina (acidum uricum)* korišćenjem automatskog analizatora ARCHITECT c8000 (Abbott Diagnostics USA). Serumaska koncentracija kreatinina određivana je kinetičkom UV metodom uz komercijalne setove istog proizvođača, referentne vrednosti za muškarce: 63.6-110.5 $\mu\text{m/L}$, za žene: 50.4-98.1 $\mu\text{mol/L}$. Serumaska koncentracija uree određivana je kinetičkim UV testom uz reagense iste

firme. Referentne vrednosti za muškarce: < 50 godina 3.2 – 7.4 mmol/L, > 50 godina 3.0 – 9.2 mmol/L; za žene: < 50 godina 2.5 - 6.7 mmol/l, > 50 godina 3.5 do 7.2 mmol/L. Serumska koncentracija mokraćne kiseline određivana je enzimatskim kolor testom upotrebom pratećih set-reagenasa. Referentne vrednosti za muškarce: 210-420 $\mu\text{mol/L}$, za žene: 150-350 $\mu\text{mol/L}$.

Serumska koncentracije *glukoze* određivana je standardnim enzimatskim UV testom, metodom sa heksokinazom na ARCHITECT c8000 biohemijskom analizatoru, korišćenjem komercijalnih reagens setova istog proizvođača. Referentne vrednosti iznose 3.9-6.1 mmol/L.

Nivo *HbA_{1c}* je određivan enzimskom metodom uz korišćenje reagenasa firme Abbott na aparatu Architect ci4100. Jedinice su izražavane prema IFCC preporukama u mmol/mol. Referentni interval je 20-42 mmol/mol.

Serumska koncentracija *visoko senzitivnog C-reaktivnog proteina* određivana je imunoturbidimetrijskom metodom na automatskom analizatoru ARCHITECT c8000 korišćenjem seta istog proizvođača MULTIGENT CRP Vario testa, referentni opseg: 0.0 – 0.5 mg/L.

Određivanje plazmatske koncentracije *homocisteina* vršeno je imunometrijski Chemiluminescent Imunoassay metodom (CMIA) uz korišćenje reagenasa firme Abbott na aparatu Architect ci4100. Referentna vrednost je 5-12 $\mu\text{mol/l}$.

Holesterol i trigliceridi su određivani standardnom enzimskom metodom uz korišćenje reagenasa firme Abbott na aparatu Architect ci4100. HDL-holesterol je određivan direktnom enzimskom metodom, takođe uz korišćenje reagenasa firme Abbott na aparatu Architect ci4100. Vrednosti *LDL-holesterola* (Friedewald i saradnici) su dobijene računskim putem. Kod ispitanika kod kojih su vrednosti triglicerida bile iznad 4,5 mmol/l LDL-holesterol je određivan direktnom enzimskom metodom takođe uz korišćenje

reagenasa firme Abbott na aparatu Architect ci4100. Vrednosti *non-HDL holesterola* su dobijene računskim putem, oduzimanjem vrednosti HDL-holesterola od vrednosti ukupnog holesterola.

Referentne vrednosti za lipidski status su uzete iz Odeljenja za specijalizovanu laboratorijsku dijagnostiku, Centra za laboratorijsku medicinu, KC Vojvodine koje su napisane prema preporukama nacionalnog Vodiča za dijagnostifikovanje i lečenje lipidskih poremećaja (Tabela 7).

Tabela 7. Referentne vrednosti lipida u krvi

| Koncentracije | Poželjne | Granično rizične | Visoko rizične |
|----------------------------|----------|------------------|----------------|
| Ukupni holesterol (mmol/l) | do 5.20 | 5.21-6.19 | ≥6.20 |
| Trigliceridi (mmol/l) | do 1.70 | 1.71-2.29 | ≥2.30 |
| HDL-holesterol (mmol/l) | ≥1.60 | 1.01-1.59 | ≤1.00 |
| LDL-holesterol (mmol/l) | do 3.40 | 3.41-4.09 | ≥4.10 |

U odnosu na vrednosti izračunatog indeksa telesne mase (ITM) na osnovu prethodno izmerene telesne mase i visine, ispitanici su klasifikovani kao normalno uhranjeni (ITM 18.5-24.9), prekomerno uhranjeni (ITM 25.0-29.9) i gojazni (ITM ≥ 30) (329).

Procena JGF vršena je od strane nadležnog nefrologa na osnovu rezultata serumske koncentracije kreatinina upotrebom prediktivne MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) jednačine: $JGF \text{ (ml/min/1,73 m}^2\text{)} = 32.788 \times (\text{SCr})^{-1.154} \times (\text{godine})^{-0.203} \times (0.742 \text{ ako je žena}) \times (1.21 \text{ ako je crnac})$, pri čemu je SCr-koncentracija kreatinina u serumu (μmol/L ili mg/dL) (330).

Trombofilija je definisana kao prisustvo deficita AT, PC, PS, postojanje APC-R, point mutacije gena za sintezu FII G20210A i FV G1691A i antifosfolipidnog sindroma (APS) po kriterijumima ISTH SSC (331). APS sa jednim pozitivnim antifosfolipidnim

antitelom je definisan kao prisustvo povišenog titra jednog od antifosfolipidnih antitela, APS sa dva pozitivna antifosfolipidna antitela je definisan kao prisustvo povišenog titra dva antifosfolipidna antitela, dok je udružena trombofilija definisana kao istovremeno prisustvo urođene i stečene trombofilije ili urođene trombofilije sa APS ili stečene trombofilije sa APS.

Hipertenzija je definisana kao vrednost sistolnog i/ili dijastolnog pritiska $\geq 140/90$ mmHg (332).

Dijabetes melitus tip 2 je definisan kao prethodno klinički dijagnostikovani i klasifikovani dijabetes.

U Centru za radiologiju Kliničkog centra Vojvodine ispitanicima je vršena morfološka procena promera i kvaliteta arterijskih i venskih krvnih sudova nedominantne ruke dupleks skeniranjem metodom, ultrazvukom visoke rezolucije u B modu, u realnom vremenu, pomoću kolor dupleks ultrasonografskog aparata Logiq 7 (General Electric Yonagawa Medical Systems LTD, Tokyo, Japan), linearnom sonodom M12L opsega frekvence 12 MHz. Pregled arterija i vena u distalnoj trećini podlaktice, kubitalnoj i nadlaktičnoj regiji, izvršen je u ležećem položaju ispitanika sa oslonjenom rukom pored tela u supinaciji. Pomoću softverskog programa, uzdužnim snimanjem izmerena je debljina zidova krvnih sudova i utvrđeno eventualno prisustvo morfoloških promena, kao i promer krvnih sudova koji je definisan kao unutrašnji dijametar arterijskog ili venskog krvnog suda. Po nalogu nadležnog nefrologa, istom metodom je izvršena detekcija prisustva rane tromboze arteriovenske fistule. Ultrasonografsko merenje je izvedeno od strane nezavisnog lekara specijaliste radiologa koji nije bio upoznat sa kliničkim podacima ispitanika.

12.4. Osnovne metode statističke obrade podataka

U svrhu prikaza osnovnih karakteristika ispitanika korištene su metode deskriptivne statistike. Nakon testiranja distribucije za svaku pojedinačnu varijablu, upotrebom Kolmogorov-Smirnov testa, kontinuirane varijable sa normalnom distribucijom su prezentovane kao srednja vrednost (\bar{X}) i standardna devijacija (SD), a varijable koje nemaju normalnu distribuciju kao geometrijska sredina (medijana - Me) i interval poverenja za medijanu (95%CI za Me). Godine ispitanika, dužina trajanja HBB, godine života pri ranijem tromboznom incidentu prikazane su kao medijana i interval poverenja za medijanu (95% CI za Me). Kategorijske varijable prezentovane su kao broj opservacija podeljen sa ukupnim brojem ispitanika u grupi, odnosno kao procenat (333).

Upotrebom Kolmogorov-Smirnov testa utvrđena je distribucija/raspodela ispitivanih parametara. Normalna raspodela/distribucija je utvrđena za SP (mmHg), DP (mmHg), UK holesterol (mmol/l), nonHDL-holesterol (mmol/l), MPV (fl), Ag ASPI (U), Ag Coll (U), Ag TRAP (U), Hct (%), MCV (fl), MCH (pg) i MCHC (g/dl).

Nepravilna raspodela je bila prisutna za sledeće parametre: ITM, MDRD (ml/min/1.73 m²), kreatinin, urea, ac.uricum, proteinurija, homocistein, glukoza (mmol/l), HbA1c (mmol/mol), LDL-holesterol (mmol/l), HDL-hoolesterol (mmol/l), trigliceridi (mmol/l), leukociti (n) x10⁹/l, neutrofilni (n) x 10⁹/l, limfociti (n) x10⁹/l, NLR, CRP (mg/l), PLR, aPTT [R], PV [R], TV [R], fibrinogen(g/L) , trombociti (n) x 10⁹/l, PDW, PCT (%), %rP (%), svi faktori koagulacije [%], vWF Act [%], vWF Ag [%], aktivatori plazminogena (jed. urokinaze), inhibitor plazminogena (%), Ag ADP (U), eritrociti (n) x10⁶/l, hemoglobin (g/dl), RDW (%).

Za ispitivanje statističke značajnosti razlika kontinuiranih varijabli, a u zavisnosti od raspodele, korišten je Studentov T test (pravilna distribucija/raspodela), odnosno Mann-Whitney U test (nepravilna distribucija/raspodela). Za ispitivanje razlika u učestalosti

definisanih kategorija između različitih grupa ispitanika korišten je Pearson-ov χ^2 test. Parametrijski ANOVA (pravilna distribucija/raspodela), odnosno neparametrijski Krushal Walis H test (nepravilna distribucija/raspodela) sa post hoc testiranjem je korišćen za ispitivanje statističke značajnosti između pogrupa ispitivane grupe u odnosu na primenu antitromboznog lečenja. Korelaciona analiza je prikazana pomoću Pearson-ovog koeficijenta linearne korelacije (r) sa logaritamski transformisanim vrednostima koje nisu imale normalnu distribuciju, odnosno Sperman-ovim koeficijentom za kategorijske varijable (rho).

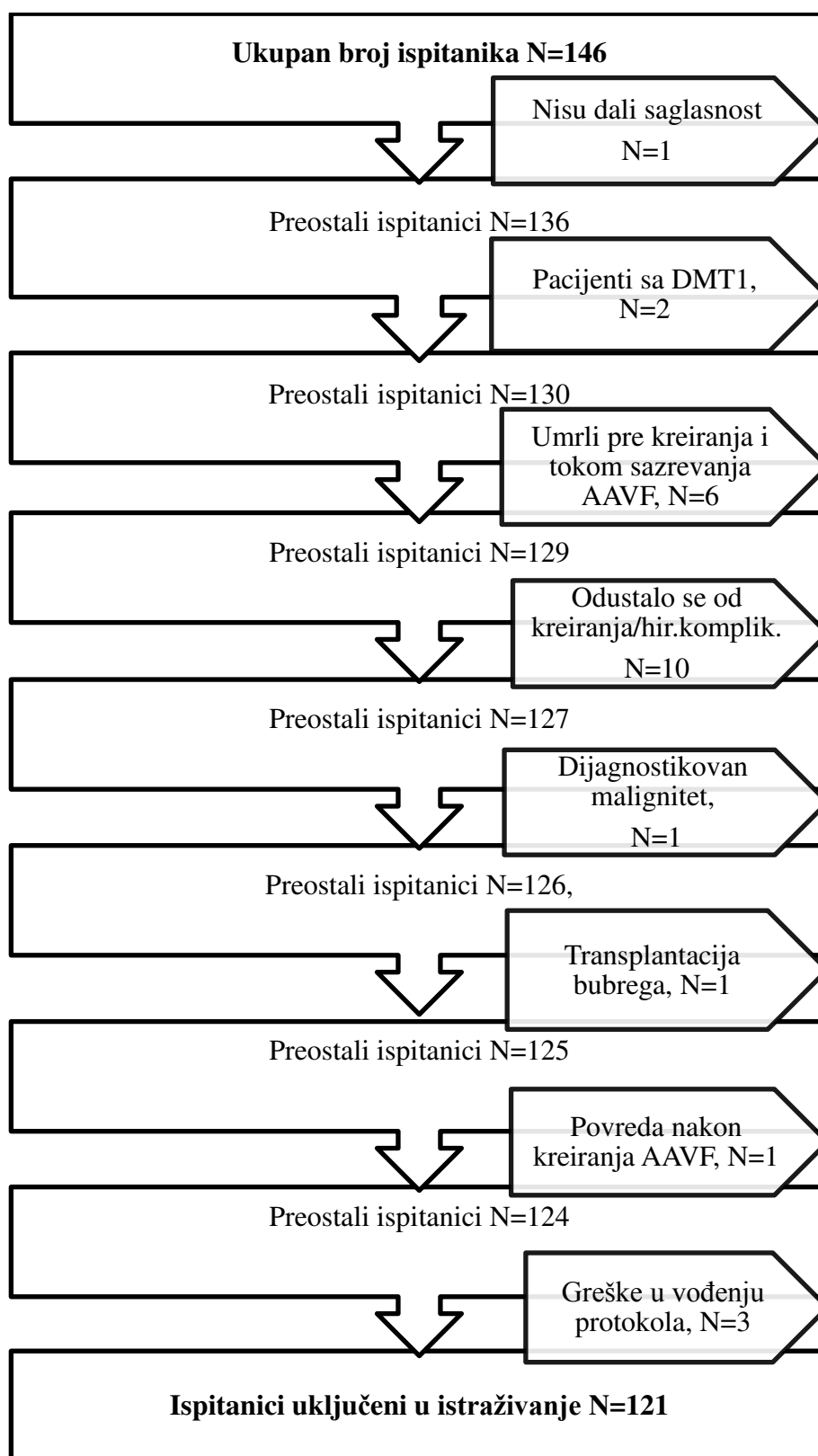
U cilju identifikacije parametara koji su imali statički značajan prediktivni potencijal u odnosu na maturaciju fistule urađena je univarijantna logistička regresiona analiza.

Statističko testiranje postavljenih hipoteza obavljeno je dvostranim statističkim testovima sa nivoom značajnosti od 0.05 ($p < 0.05$), u svakom od pomenutih testova. Za statističku obradu podataka korišćen je program SPSS, verzija 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

13. REZULTATI

13.1. Selekcija i opšte karakteristike ispitanika

Nakon hirurškog kreiranja distalne podlaktne AVF na nedominatnoj ruci, od ukupno 146 bolesnika iz istraživanja je isključeno 25: njih 10 kod kojih se iz kliničkih razloga odustalo od kreiranja AVF ili je došlo do hirurških peri/postoperativnih komplikacija unutar 24h , potom 3 bolesnika koji su umrli pre kreiranja AVF i 3 umrlih tokom perioda sazrevanja AVF od 6 nedelja, 1 ispitanik kod kojeg je otkriven malignitet, zatim 2 bolesnika sa DM tip I, 1 ispitanik kod kojeg je nakon kreiranja AVF došlo do preloma ruke, 1 bolesnik kod koga je umesto kreiranja AVF načinjena transplantacija bubrega, 1 ispitanik koji nije potpisao pristanak informisanog ispitanika i 3 bolesnika kod kojih je došlo do grešaka u sprovođenju protokola. Nakon toga u ispitivanje je uključen ukupno 121 bolesnik (Shema 1).



Shema 1. Selekcija bolesnika koji su uključeni u istraživanje

13.1.1. Demografski podaci bolesnika u ispitivanim grupama

Ispitivanjem je obuhvaćen 121 ispitanik sa terminalnim stadijumom hronične bubrežne bolesti, 41 (41/121, 33.9%) žena i (80/121, 66.1%) muškarca. Metodom slučajnog izbora ispitanici su nakon kreiranja AAVF na nedominantnoj ruci, u cilju procene uticaja različitih antitromboznih lekova na sprečavanje nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti fistula za hemodijalizu podeljeni u 3 grupe:

- Grupa I, kontrolna; 40 ispitanika, 19 (47.5%) žena i 21 (52.5%) muškaraca, koji nakon kreiranja AVF nisu dobijali antitromboznu terapiju;
- Grupa II; 42 ispitanika, 9 (21.4%) žena i 33 (78.6%) muškaraca, kod kojih je dan nakon kreiranja AVF započeta primena antitrombocitnog leka iz grupe tienopiridina, Ticlodix® (ticlopidin) tbl a 250 mg, 2 x ½ tbl dnevno tokom 6 nedelja;
- Grupa III; 39 ispitanika, 12 (30.8%) žena i 27 (69.2%) muškaraca kod kojih je dan nakon kreiranja AVF započeta subkutana primena antikoagulantnog leka iz grupe niskomolekularnih heparina, Fraxiparine® (nadroparin-kalcijum) 2850 anti Xa i.j. (0.3 ml) dnevno tokom 6 nedelja.

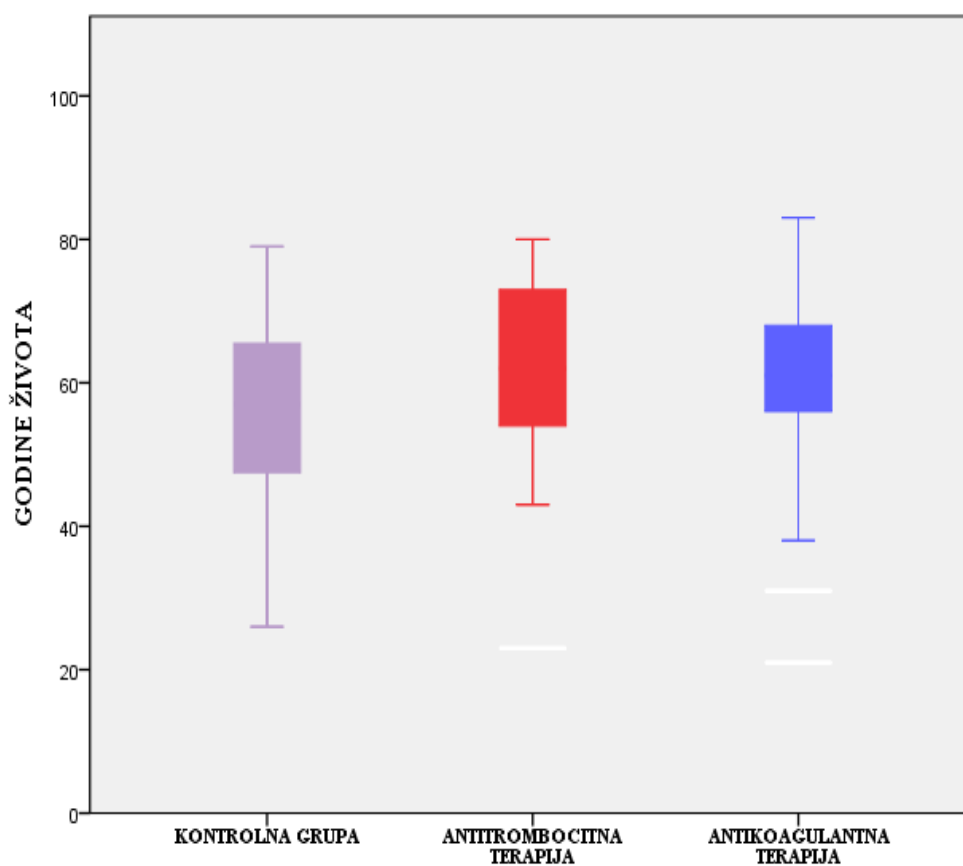
Osnovni demografski podaci, starost i polna struktura ispitivanih grupa prikazane su u Tabeli 8, Grafikonu 1 i Grafikonu 2.

U medijani godina života između posmatranih grupa ispitanika [51 (51-61) vs. 61.5 (57.3-67.9) vs. 61 (56.1-66); P=0.105] nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike. Najmlađi ispitanik u Grupi I je imao 26, najstariji 79 godina, u Grupi II najmlađi je imao 23, najstariji 80 godina, dok je u Grupi III najmlađi imao 21, a najstariji ispitanik 83 godine.

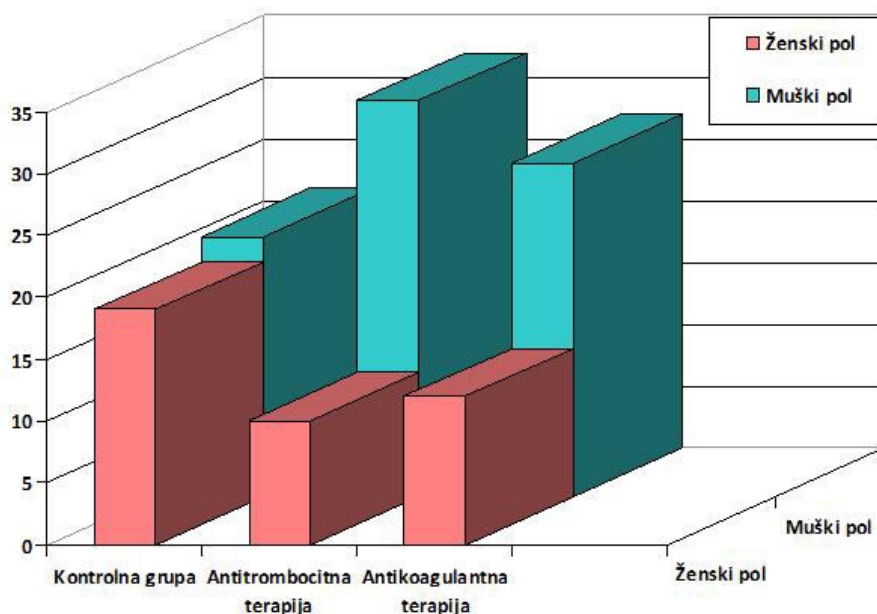
U ispitivanim grupama nije zabeležena statistički značajna razlika zastupljenosti muškog pola u odnosu na ženski (21/40 vs. 32/42 vs. 27/39; P=0.068).

Tabela 8. Demografski podaci ispitanika u odnosu na ispitivane grupe

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|---------------------|-----------------|------------------|-------------------|-------|
| Starost (godine) | 51 (51-61) | 61.5 (57.3-67.9) | 61 (56.1- 66) | 0.105 |
| Muškarci (n/N) | 21/40 | 32/42 | 27/39 | 0.068 |



Grafikon 2. Starosna struktura ispitanika u ispitivanim grupama – prikazane su medijana, interkvantilni opseg, minimum i maksimum godina života ispitanika



Grafikon 3. Zastupljenost muškog i ženskog pola u ispitivanim grupama

13.1.2. Klinički podaci ispitanika u ispitivanim grupama

Klinički podaci ispitanika su prikazani na Tabeli 9.

Između ispitivanih grupa nije bila prisutna statistički značajna razlika zastupljenosti DM tip II i hipertenzije (18/40 vs. 28/42 vs. 26/39; $P=0.74$) kao uzročnog činioca HBB u odnosu na zastupljenost primarne bolesti bubrega – glomerulonefritisa, pijelonefritisa, policistične bolesti bubrega (22/40 vs. 14/42 vs. 13/39) kao etiološkog faktora HBB.

U odnosu na medijanu dužine trajanja HBB [2.5 (1-7) vs. 2.5 (1-4.63) vs. 3 (2-5); $P=0.43$] nije uočeno prisustvo statistički značajne razlike.

U odnosu na prisustvo pridruženog DM (8/40 vs. 15/42 vs. 10/39; $P=0.25$) kao i pridružene hipertenzije (34/40 vs. 38/42 vs. 38/39; $P=0.156$) nije bilo značajne statističke razlike između ispitivanih grupa.

Zastupljenost aterosklerotskih KVB (AIM, AMU, PAOB) između ispitivanih grupa (5/40 vs. 15/42 vs. 10/39; $P=0.051$) nije se statistički značajno razlikovala.

Zastupljenost broja pušača u ispitivanim grupama (16/40 vs. 17/42 vs. 19/39; $P=0.678$) nije se statistički značajno razlikovala, kao ni dužina pušačkog staža izražena u godinama (9.75 ± 13.20 vs. 10.4 ± 14.8 vs. 10.72 ± 13.0 ; $P=0.95$).

Ispitivane grupe se u odnosu na srednju vrednosti sistolnog krvnog pritiska (145.5 ± 22.54 vs. 150.6 ± 19.91 vs. 152.32 ± 19.34 ; $P=0.434$) i srednju vrednosti dijastolnog krvnog pritiska (83 ± 13 vs. 84 ± 11.5 vs. 86 ± 12.3 ; $P=0.61$), nisu statistički značajno razlikovale.

U odnosu na medijanu indeksa telesne mase (ITM) između ispitivanih grupa [24.97 (23.2 ± 25.9) vs. 26.1 (23.18 ± 28.55) vs. 24.1 ± 30.00 ; $P=0.425$] nije utvrđeno prisustvo statistički značajne razlike, kao ni u zastupljenosti gojaznih ispitanika (5/40 vs. 9/42 vs. 11/39; $P=0.36$) u ispitivanim grupama.

Tabela 9. Klinički podaci ispitanika u odnosu na ispitivane grupe

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|-----------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| Etiologija HBB n/N DMT2 i HTA | 18/40 | 28/42 | 26/39 | 0.074 |
| Primarne bolesti bubrega | 22/40 | 14/42 | 13/39 | |
| Dužina trajanja HBB (godine) | 2.5 (1-7) | 2.5 (1-4.63) | 3 (2-5) | 0.43 |
| Dijabetes n/N | 8/40 | 15/42 | 13/39 | 0.25 |
| Hipertenzija n/N | 34/40 | 38/42 | 38/39 | 0.156 |
| KVB n/N | 5/40 | 15/42 | 10/39 | 0.051 |
| Pušenje n/N | 16/40 | 17/42 | 19/39 | 0.678 |
| Dužina pušačkog staža (godine) | 10.7 (6.19-14.81) | 9.68 (5.14-14.21) | 10.72 (6.50-14.93) | 0.95 |
| SP (mmHg) | 145.5±22.54 | 150.6±19.91 | 152.32±19.34 | 0.434 |
| DP (mmHg) | 83±13 | 84±11.5 | 86±12.3 | 0.61 |
| ITM (kg/m ²) | 24.97 (23.2±25.9) | 26.1 (23.18±28.55) | 24.1±30.00 | 0.425 |
| Gojaznost | 5/40 | 9/42 | 11/39 | 0.36 |

Legenda: DMT2 – dijabetes melitus tip II; HTA – arterijska hipertenzija; KVB- kardiovaskularne bolesti; SP-sistolni krvni pritisak, DP-dijastolni krvni pritisak; ITM-indeks telesne mase

13.1.3. Klinički podaci o lekovima koji mogu uticati na sazrevanje AVF

U Tabeli 10. je prikazano da između ispitivanih grupa nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti korišćenja lekova koji mogu imati uticaj na funkcionalnost hemostaznog sistema, ACE inhibitora (19/40 vs. 17/42 vs. 13/39; P=0.439), statina (2/40 vs. 8/42 vs. 7/39, P=0.131), blokatora kalcijumovih kanala (22/40 vs. 33/42 vs. 28/39; P=0.062) i beta blokatora (15/40 vs. 19/42 vs. 24/39; P=0.093).

Tabela 10. Podaci o lekovima koji mogu imati uticaj na sazrevanje AVF

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|--|-----------------|------------------|-------------------|-------|
| ACE inhibitori n/N | 19/40 | 17/42 | 13/39 | 0.439 |
| Statii n/N | 2/40 | 8/42 | 7/39 | 0.131 |
| Blokatori Ca ⁺⁺ kanala n/N | 22/40 | 33/42 | 28/39 | 0.062 |

Legenda: ACE inhibitori - inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima;
Blokatori Ca⁺⁺ kanala– blokatori kalcijumovih kanala

13.1.4. Klinički podaci ispitanika o ranijim tromboznim komplikacijama u ispitivanim grupama

Podaci o ranijim tromboznim komplikacijama prikazani su na Tabeli 11.

Zastupljenost ranijih tromboza u ispitivanim grupama (5/40 vs.14/42 vs. 13/39; P=0.050) nije se značajno statistički razlikovala između ispitivanih grupa.

U odnosu na zastupljenost recidivantnih tromboza između ispitivanih grupa (0/40 vs 3/42 vs. 2/39; P=0.249) nije bilo prisustva statistički značajne razlike.

U odnosu na starost ispitanika u vreme dobijanja tromboze u Grupi I najmlađi ispitanik je imao 40, a najstariji 71 godinu, u Grupi II najmlađi 40, a najstariji 70 godina, dok je u Grupi III najmlađi ispitanik imao 44, a najstariji 80 godina.

Između ispitivanih grupa u odnosu na zastupljenost arterijskih tromboza (3/40 vs. 12/42 vs 8/39; P=0.050) kao i u odnosu na zastupljenost venskih tromboza (3/40 vs. 2/42 vs. 6/39; P=0.229) nije postojala značajna statistička razlika.

U odnosu na pozitivnu porodičnu anamnezu prisustva tromboza kod članova uže porodice, između ispitivanih grupa (2/40 vs. 3/42 vs. 2/39; P=0.897) nije utvrđena značajna statistička razlika.

Tabela 11. Klinički podaci ispitanika u odnosu na ranije trombozne komplikacije ispitivanih podgrupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|-----------------------------------|-----------------|------------------|-------------------|-------|
| Ranije tromboze n/N | 5/40 | 14/42 | 13/39 | 0.050 |
| Recidivantne tromboze n/N | 0/40 | 3/42 | 2/39 | 0.249 |
| Starost u vreme tromboze (godine) | 6/40 | 10/42 | 12/39 | 0.035 |
| Arterijske tromboze n/N | 3/40 | 12/42 | 8/39 | 0.050 |
| Venske tromboze n/N | 3/40 | 2/42 | 6/39 | 0.229 |
| Pozitivna porodična ananeza n/N | 2/40 | 3/42 | 2/39 | 0.897 |

13.1.5. Pokazatelji prisustva trombofilnog stanja u ispitivanim grupama

U zastupljenosti deficita AT između ispitivanih grupa (7/40 vs 3/42 vs 3/39; P=0.240)-nije bilo statistički značajne razlike.

Zastupljenost deficita PC (2/40 vs. 3/42 vs. 1/39, P=0.638) se nije statistički značajno razlikovala između ispitivanih grupa.

Zastupljenost deficita PS (3/40 vs. 3/42 vs. 4/39; P=0.210) nije se statistički značajno razlikovala između ispitivanih grupa.

Zastupljenost prisustva APC-R (3/40 vs. 2/42 vs. 4/39; P=0.642) takođe se nije značajno statistički razlikovala između ispitivanih grupa.

Zastupljenost genskih mutacija FV G1691A heterozigota (3/40 vs. 0/42 vs. 3/39; P=0.187), FII G20210A homozigota (0/40 vs. 0/42 vs. 1/39; P=0.346), antifosfolipidnih antitela LA (10/40 vs. 8/42 vs. 16/39; P=0.77), ACL IgG (0/40 vs. 0/42 vs. 1/39; P=0.346), ACL IgM (1/40 vs 0/42 vs 0/39; P=0.360) i anti β_2 GPI IgG (2/40 vs 1/42 vs 0/39; P=0.387) i anti β_2 GPI IgM (2/40 vs. 1/42 vs 1/39; P=0.779) između ispitivanih grupa se nije statistički značajno razlikovala. Pokazatelji prisustva markera trombofilije u ispitivanim grupama prikazano je na Tabeli 12.

Prisustvo trombofilija između ispitivanih grupa (20/40 vs. 17/42 vs. 22/39; P=0.351) nije se statistički značajno razlikovalo.

Tabela 12. Pokazatelji prisustva markera trombofilije u ispitivanim grupama

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|---|-----------------|------------------|-------------------|-------|
| AT Snižen n/N | 7/40 | 3/42 | 3/39 | 0.240 |
| PC Snižen n/N | 2/40 | 3/42 | 1/39 | 0.638 |
| PS Snižen n/N | 3/40 | 3/42 | 7/39 | 0.210 |
| APCR Snižen n/N | 3/40 | 2/42 | 4/39 | 0.642 |
| FV Leiden Homozigot Heterozigot n/N | 0/40 3/40 | 0/42 0/42 | 0/27 3/39 | 0.187 |
| FIIG20210A Homozigot Heterozigot n/N | 0/40 0/40 | 0/42 0/42 | 1/39 0/39 | 0.346 |
| LA n/N | 10/40 | 8/42 | 16/39 | 0.77 |
| ACL IgG n/N | 0/40 | 0/42 | 1/39 | 0.346 |
| ACL IgM n/N | 1/40 | 0/42 | 0/39 | 0.360 |
| anti β_2 GPI IgG n/N | 0/40 | 1/42 | 0/39 | 0.387 |
| anti β_2 GPI IgM n/N | 2/40 | 1/42 | 2/39 | 0.779 |
| Trombofilija n/N | 20/40 | 17/42 | 22/39 | 0.351 |

Legenda: AT – antitrombin; PC – protein S; PC – protein C; APCR - rezistencija na aktivisani protein C; LA – lupusni antikoagulans; ACL – antikardiolipinska antitela; anti β_2 GPI – antibeta₂ glikoprotein I antifosfolipidna antitela

13.1.6. Biohemijski parametari bubrežne funkcije u ispitivanim grupama

Vrednosti biohemijskih parametara bubrežne funkcije u ispitivanim grupama prikazane su na Tabeli 13.

Između ispitivanih grupa nije ustanovljena značajna stistička razlika vrednosti medijane za JGF izražene preko MDRD [7.45 (5.90-8.24) vs. 7.62 (6.36-8.91) vs. 8.75 (7.18-10.56); P=0.052], kreatinina [668.0 (546.82-767.12) vs. 684.5.5 (541.93-778.54) vs. 553.00 (450.83-666.17); P=0.470], ureu [25.3 (23.20-28.56) vs. 28.25 (25.05-33.63) vs. 26.6 (24.3-30.4); P=0.671], ac.uricum [412.0 (372.35-493.06) vs. 424.5 (383.52-474.15) vs. 414.0 (384.25-520.71) P=0.944] i homocistein [25.30 (20.9-31.8) vs. 25.5 (20.2-30.3) vs. 35.6 (20.8-30.8); P=0.990].

Tabela 13. Poređenje biohemijskih parametra bubrežne funkcije između ispitivanih grupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|------------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| MDRD (ml/min/1.73 m ²) | 7.45 (5.90-8.24) | 7.62 (6.36-8.91) | 8.75 (7.18-10.56) | 0.052 |
| kreatinin (μmol/l) | 668.0 (546.82-767.12) | 684.5. (541.93-778.54) | 553.00 (450.83-666.17) | 0.470 |
| urea (mmol/l) | 25.3 (23.20-28.56) | 28.25 (25.05-33.63) | 26.6 (24.3-30.4) | 0.671 |
| ac.uricum (μmol/l) | 412.0 (372.35-493.06) | 424.5 (383.52-474.15) | 414.0 (384.25-520.71) | 0.944 |
| homocistein (μmol/l) | 25.30 (20.9-31.8) | 25.5 (20.2-30.3) | 35.6 (20.8-30.8) | 0.990 |

Legenda: MDRD- Modification of Diet in Renal Disease jednačina za procenu JGF; ac.uricum-mokraćna kiselina

13.1.7. Parametri metabolizma glukoze i lipida u ispitivanim grupama

Vrednosti parametara metabolima glukoze i lipida prikazane su na Tabeli 14.

Između ispitivanih grupa nije bila prisutna značajna statistička razlika medijane vrednosti glukoze [5.03 (4.7-5.4) vs. 5.05 (4.8-5.9) vs. 4.9 (4.5-5.7) P=0.438] i HbA_{1c} [35.4 (31.5-38.3) vs. 37.1 (35.4-42.3) vs. 34.6 (31.9-36.8) P=0.068].

U odnosu na parametare metabolizma lipida između ispitivanih grupa nije bila prisutna statistički značajna razlika srednjih vrednosti, odnosno medijane vrednosti

ukupnog holesterola [4.9±1.04 vs. 4.63 ±1.25 vs. 5.12±1.45; P=0.242), triglicerida [1.83 (1.46-2.1) vs. 1.61 (1.13-2.14) vs. 1.82 (1.46-2.22); P=0.449), HDL-holesterola [0.87 (0.8-1.06) vs. 0.90 (0.75-1.08) vs. 0.92 (0.8-1.16); P=0.000], nonHDL-holesterol [3.82±1.5 vs 3.41±1.2 vs. 3.49±1.72; P=0.40) i LDL-holesterola [3.15 (2.61-3.35) vs. 2.66 (2.33-3.40) vs. 2.88 (2.7-3.7); P=0.296].

Tabela 14. Parametri metabolizma glukoze i lipida

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
| Glukoza (mmol/l) | 5.03 (4.7-5.4) | 5.05 (4.8-5.9) | 4.9 (4.5-5.7) | 0.438 |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 35.4 (31.5-38.3) | 37.1 (35.4-42.3) | 34.6 (31.9-36.8) | 0.068 |
| UK holesterol (mmol/l) | 4.9±1.04 | 4.63 ±1.25 | 5.12±1.45 | 0.242 |
| nonHDL-holesterol (mmol/l) | 3.82±1.5 | 3.41±1.2 | 3.49±1.72 | 0.40 |
| LDL-holesterol (mmol/l) | 3.15 (2.61-3.35) | 2.66 (2.33-3.40) | 2.88 (2.7-3.7) | 0.296 |
| HDL-holesterol (mmol/l) | 0.87 (0.8-1.06) | 0.90 (0.75-1.08) | 0.92 (0.8-1.16) | 0.626 |
| trigliceridi (mmol/l) | 1.83 (1.46-2.1) | 1.61 (1.13-2.14) | 1.82 (1.46-2.22) | 0.449 |

Legenda: UK holesterol – ukupni holesterol

13.1.8. Parametri inflamacije u ispitivanim grupama

Vrednosti inflamatornih parametra učesnika u ispitivnim grupama prikazane su na Tabeli 15.

Između ispitivanih grupa nije bila prisutna značajna stistička razlika medijane vrednosti parametara inflamacije, leukocita (7.3 (6.1–9.7) vs. 6.9 (5.9–7.9) vs. 7.35 (5.6–8.3); P=0.763), neutrofila [4.6 (3.4–7.5) vs. 4.2 (3.2–5.0) vs. 4.25 (3.1–5.5); P=0.203], limfocita [1.24 (1.04-1.75) vs. 1.44 (1.2-1.9) vs. 1.62 (1.48-1.85); P=0.787], odnosa neutrofililimfociti [3.0 (2.2-4.4) vs. 2.6(2.2-3.3) vs. 2.7 (2.1-3.5); P=0.158), CRP [9.1

(3.18-21.3) vs. 5.7 (2.8-18.7) vs. 9.20 (6.5-17.6) P=0.758] i odnosa trombociti/limfociti [165.7 (119.4-207.6) vs. 132.4 (118.5-162.8) vs 131.1 (111-172.6) P=0.114].

Tabela 15. Poređenje parametara inflamacije u ispitivanim grupama

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|------------------------------------|------------------------|------------------------|----------------------|-------|
| leukociti (n) x10 ⁹ /l | 7.3 (6.1-9.7) | 6.9 (5.9-7.9) | 7.35 (5.6-8.3) | 0.763 |
| neutrofili (n) x10 ⁹ /l | 4.6 (3.4-7.5) | 4.2 (3.2-5.0) | 4.25 (3.1-5.5) | 0.203 |
| limfociti (n) x10 ⁹ /l | 1.24 (1.04-1.75) | 1.44 (1.2-1.9) | 1.62 (1.48-1.85) | 0.787 |
| NLR | 3.0 (2.2-4.4) | 2.6 (2.2-3.3) | 2.7 (2.1-3.5) | 0.158 |
| CRP (mg/l) | 9.1 (3.18-21.3) | 5.7 (2.8-18.7) | 9.20 (6.5-17.6) | 0.758 |
| PLR | 165.7 (119.4-207.6) | 132.4 (118.5-162.8) | 131.1 (111-172.6) | 0,114 |

Legenda: CRP – C reaktivni protein; NLR-odnos broja neutrofila sa brojem limfocita; PLR – odnos broja trombocita sa brojem limfocita

13.1.9. Osnovni hemostazni parametri u ispitivanim grupama

Na Tabeli 16. su prikazane vrednosti osnovnih hemostaznih i trombocitnih parametara.

Poređenjem vrednosti medijana ili srednjih vrednosti osnovnih globalnih hemostaznih parametra aPTT [0.98 (0.89-1.05) vs. 0.94 (0.86-0.96) vs. 0.94 (0.89-1.02) P=0.298], PT [1.0 (0.97-1.03) vs. 1.0 (0.97-1.05) vs. 1.01 (0.96-1.05); P=0.924], TT [0.97 (0.93-1.01) vs. 0.96 (0.93-1.0) vs. 1.0 (0.94-1.05) P=0.411], fibrinogena [4.1 (3.8-5.2) vs. 4.8 (4.5-5.2) vs. 4.6 (4.2-5.1); P=0.287], broja trombocita [216 (184-279.4) vs. 197.5 (189.7-249.1) vs. 227.5 (189.4-282); P=0.359] i trombocitnih indeksa MPV [8.45 ± 1.06 vs. 8.51 ± 1.05 vs. 8.45 ± 1.03; P=0.967], PDW [16 (15.6-16.5) vs. 16.3 (15.8-16.8) vs. 15.8 (15.2-16.8) P=0.655], PCT [0.19 (0.15-0.21) vs. 0.17 (0.16 ± 0.2) vs. 0.19 (0.14-

0.25); P=0.398] i %rP [3.21 (2.3-4.4) vs. 4.12 (2.3-7.3) vs. 3.81 (2.04-5.6); P=0.215] nije ustanovljeno prisustvo značajne statističke razlike između ispitivanih grupa.

Tabela 16 .Poređenje osnovnih hemostaznih parametara između ispitivanih podgrupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|--|--------------------|------------------------|----------------------|-------|
| aPTT [R] | 0.98 (0.89-1.05) | 0.94 (0.86-0.96) | 0.94 (0.89-1.02) | 0.298 |
| PT [R] | 1.0 (0.97-1.03) | 1.0 (0.97-1.05) | 1.01 (0.96-1.05) | 0.924 |
| TT [R] | 0.97 (0.93-1.01) | 0.96 (0.93-1.0) | 1.0 (0.94-1.05) | 0.411 |
| Fibrinogen (g/L) | 4.1 (3.8-5.2) | 4.8 (4.5-5.2) | 4.6 (4.2-5.1) | 0.287 |
| Trombociti (n) x 10 ⁹ /l | 216 (184-279.4) | 197.5 (189.7-249.1) | 227.5 (189.4-282) | 0.359 |
| MPV (fl) | 8.45 ± 1.06 | 8.51 ± 1.05 | 8.45 ± 1.03 | 0.967 |
| PDW (fl) | 16 (15.6-16.5) | 16.3 (15.8-16.8) | 15.8 (15.2-16.8) | 0.655 |
| PCT (%) | 0.19 (0.15-0.21) | 0.17 (0.16 ± 0.2) | 0.19 (0.14-0.25) | 0.398 |
| %rP (%) | 3.21 (2.3-4.4) | 4.12 (2.3-7.3) | 3.81 (2.04-5.6) | 0,215 |

Legenda: aPTT – aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme; PT – protrombinsko vreme; TT – trombinsko vreme; MPV- srednji volumen trombocita; PDW-raspodela trombocita po volumenu; PCT - trombokrit; %rP - procenat retikulisanih trombocita.

13.1.10. Vrednosti činilaca koagulacije u ispitivanim grupama

Vrednosti pojedinačnih činilaca koagulacije prikazani su na Tabeli 17.

Između ispitivanih grupa nije ustanovljeno prisustvostatistički značajne razlike srednjih vrednosti ili vrednosti medijana koncentracije FII [103.2±19.2 vs 104.7±21 vs 104.6±21; P=0.939], FVII [140 (127-152) vs. 130 (113-142) vs. 130 (113-142) P=0.962], FX [109.8 (94-120.4) vs. 118 (105-130.3) vs. 108 (92.3-125.5); P=0.447] , FVIII [174 (116.5-230) vs. 218 (159-245) vs. 184 (139-271); P=0.800] , FIX [130 (119-141.5) vs. 123 (109-144) vs. 128 (101-147); P=0.555] , FXI [120.5 (109.5-135.4) vs. 116 (106.8-124.2) vs. 111 (102-119.8); P=0.581] i FXII [92.5 (81-108) vs. 99 (93-108) vs. 85 (71-108.4); P=0.212].

Tabela 17. Poređenje vrednosti pojedinih činilaca koagulacije između ispitivanih podgrupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|-----------|---------------------|-------------------|-------------------|-------|
| F II [%] | 103.2±19.2 | 104.7±21 | 104.6±21 | 0.939 |
| F VII [%] | 140 (127-152) | 130 (113-142) | 130 (113-142) | 0.962 |
| F X [%] | 109.8 (94-120.4) | 118 (105-130.3) | 108 (92.3-125.5) | 0.447 |
| FVIII [%] | 174 (116.5-230) | 218 (159-245) | 184 (139-271) | 0.800 |
| F IX [%] | 130 (119-141.5) | 123 (109-144) | 128 (101-147) | 0.555 |
| F XI [%] | 120.5 (109.5-135.4) | 116 (106.8-124.2) | 111 (102-119.8) | 0.581 |
| F XII [%] | 92.5 (81-108) | 99 (93-108) | 85 (71-108.4) | 0.212 |

Legenda: F– faktor koagulacije

13.1.11. Parametari endotelne i koagulacione aktivacije u ispitivanim

grupama

Rezultati poređenja parametara endotelne aktivacije, vWFact i vWFAg i koagulacione aktivacije, D dimera, prikazani su na Tabeli 18.

Između ispitivanih grupa u odnosu na parametre endotelne aktivacije, medijane vrednosti vWFact [166.9 (149.4-194.8) vs. 171.8 (150.4-203.8) vs. 182.3 (150.3-202); P=0.735] i vWFAg [213.6 (192-240) vs. 218.6 (199.8-258.2) vs. 228.6 (201-255.7); P=0.752] i medijane vrednosti D dimera [575.5 (315-816) vs. 738 (468-907) vs. 654 (456-767); P=0.688] kao i parametra koagulacione aktivacije, nije ustanovljeno prisustvo značajne statističke razlike. Zastupljenosti povišenih vrednosti vWFact (24/40 vs. 23/41 vs. 23/39; P=0.934), i povišenih vrednosti vWFAg (30/40 vs. 37/41 vs. 33/39; P=0.178) nije dostigla statistički značajnu razliku između ispitivanih grupa.

Tabela 18. Poređenje markera endotelne disfunkcije i koagulacione aktivacije

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|--------------------|------------------------|------------------------|----------------------|-------|
| vWF Act [%] | 166.9 (149.4-194.8) | 171.8 (150.4-203.8) | 182.3 (150.3-202) | 0.735 |
| Povišen n/N | 24/40 | 23/41 | 23/39 | 0.934 |
| vWF Ag [%] | 213.6 (192-240) | 218.6 (199.8-258.2) | 228.6 (201-255.7) | 0.752 |
| Povišen n/N | 30/40 | 37/41 | 33/39 | 0.178 |
| D dimer [µg/ml] | 575.5 (315-816) | 738 (468-907) | 654 (456-767) | 0.688 |

Legenda: vWF Act – aktivnost von Willebrand-ovog faktora, vWF Ag-antigen von Willebrand-ovog faktora

13.1.12. Parametari agregabilnosti trombocita u ispitivanim grupama

U Tabeli 19. su prikazani rezultati poređenja parametara agregabilnosti trombocita između ispitivanih grupa.

Poređenjem vrednosti medijana i srednjih vrednosti agregabilnosti trombocita uz različite induktore TRAP [103 ± 36.3 vs. 115 ± 35.7 vs. 113.6 ± 31.4 ; $P=0.241$], ADP [81 (70-89.5) vs. 81 (70-99) vs. 90 (73-78.7); $P=0.197$], ASPI [94.4 ± 37 vs. 106.8 ± 49.8 vs. 99.4 ± 44.4 ; $P=0.444$] i kolagen [64.1 ± 33 vs. 77.6 ± 30 vs. 75 ± 28 ; $P=0.109$], između ispitivanih grupa nije utvrđeno postojanje značajne statističke razlike.

Tabela 19. Poređenje parametara agregabilnosti trombocita između ispitivanih podgrupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|-------------|-----------------|------------------|-------------------|-------|
| Ag ADP (U) | 81 (70-89.5) | 81 (70-99) | 90 (73-78.7) | 0.197 |
| Ag ASPI (U) | 94.4 ± 37 | 106.8 ± 49.8 | 99.4 ± 44.4 | 0.444 |
| Ag Coll (U) | 64.1 ± 33 | 77.6 ± 30 | 75 ± 28 | 0.109 |
| Ag TRAP (U) | 103 ± 36.3 | 115 ± 35.7 | 113.6 ± 31.4 | 0.241 |

Legenda : Ag ADP – agregacija trombocita indukovana adenozin difosfatom; Ag ASPI – agregacija trombocita indukovana arahidonskom kiselinom; Ag Coll - agregacija trombocita indukovana kolagenom, Ag TRAP – agregacija trombocita indukovana trombin receptor aktivirajućim peptidom; U – površina ispod krive

13.1.13. Pokazatelji funkcionalnosti fibrinoliznog sistema u ispitivanim grupama

U Tabeli 20. su prikazani rezultati poređenja parametara funkcionalnosti fibrinoliznog sistema između ispitivanih grupa.

U odnosu na parametre fibrinoliznog sistema, aktivatore plazminogena [7.22 (6.6-8.5) vs. 6.8 (6.2-7.9) vs. 7.22 (6.5-8.0); P=0.761], inhibitor plazminogena (α_2 antiplazmin) [100.5 (94-103) vs. 103 (98- 106) vs. 100 (97.5-104.7; P=0.417)], nije bila prisutna statistički značajna razlika između ispitivanih grupa. Broj ispitanika sa skraćenim euglobulinskim vremenom lize koaguluma po grupama je bio 0/40 vs. 1/42 vs. 1/39.

Tabela 20. Poređenje pokazatelja funkcionalnosti fibrinoliznog sistema između ispitivanih grupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|---|-------------------|------------------|---------------------|-------|
| aktivatori plazminogena (jed. urokinaze) | 7.22 (6.6-8.5) | 6.8 (6.2-7.9) | 7.22 (6.5-8.0) | 0.761 |
| inhibitor plazminogena (%) | 100.5 (94-103) | 103 (98- 106) | 100 (97.5-104.7) | 0.417 |
| Euglobulinsko vreme fibrinolize > 120 min | 0/40 | 1/42 | 1/39 | |

13.1.14. Pokazatelji parametara crvene krvne loze u ispitivanim grupama

Rezultati poređenja parametara crvene krvne loze između ipitivnih grupa prikazani su u Tabeli 21.

Poređenjem vrednosti medijene i srednjih vrednosti crvene krvne loze, eritrocita [3.2 (3.04-3.42) vs. 3.17 (3.02-3.5) vs. 3.23 (3.05-3.32); P=0.398], hemoglobina [9.56 (9.1-10.4) vs. 9.7 (9.4-10.2) vs. 9.8 (9.5-10.48);P=0.88], Hct (29.8±4.1 vs. 29.8±4.5 vs. 28.9±3.6; P=0.590), MCV [91.2±4.05 vs. 90.3±4.24 vs. 91.4 ±4.96; P=0.433], MCH [30.7 ± 1.8 vs. 30.6 ± 1.7 vs. 30.6 ± 1.4; P=0.882], MCHC [33.7 ± 1.4 vs. 33.8 ± 1.2 vs. 33.3 ± 0.95; P=0.249] i RDW [13.6 (12.9-14.4) vs. 13.0 (12.5-13.9) vs. 13.6 (13.0-14.3); P=0.245], nije utvrđeno prisustvo statistički značajne razlike između ispitivanih grupa.

Tabela 21. Poređenje pokazatelja funkcionalnosti crvene krvne loze između ispitivanih grupa

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|-------|
| Eritrociti (n) x10 ⁶ /l | 3.2 (3.04-3.42) | 3.17 (3.02-3.5) | 3.23 (3.05-3.32) | 0.398 |
| Hemoglobin (g/dl) | 9.56 (9.1-10.4) | 9.7 9.4-10.2) | 9.8 (9.5-10.48) | 0.88 |
| Hct (%) | 29.8±4.1 | 29.8±4.5 | 28.9±3.6 | 0.590 |
| MCV (fl) | 91.2±4.05 | 90.3±4.24 | 91.4 ±4.96 | 0.433 |
| MCH (pg) | 30.7 ± 1.8 | 30.6 ± 1.7 | 30.6 ± 1.4 | 0.882 |
| MCHC (g/dl) | 33.7 ± 1.4 | 33.8 ± 1.2 | 33.3 ± 0.95 | 0.249 |
| RDW (%) | 13.6 (12.9-14.4) | 13.0 (12.5-13.9) | 13.6 (13.0-14.3) | 0.245 |

Legenda : MCV – srednji volumen eritrocita; MCH – srednja količina hemoglobina u eritrocitu; MCHC – srednja koncentracija hemoglobina u eritrocitima; RDW – mera varijabilnosti veličine eritrocita.

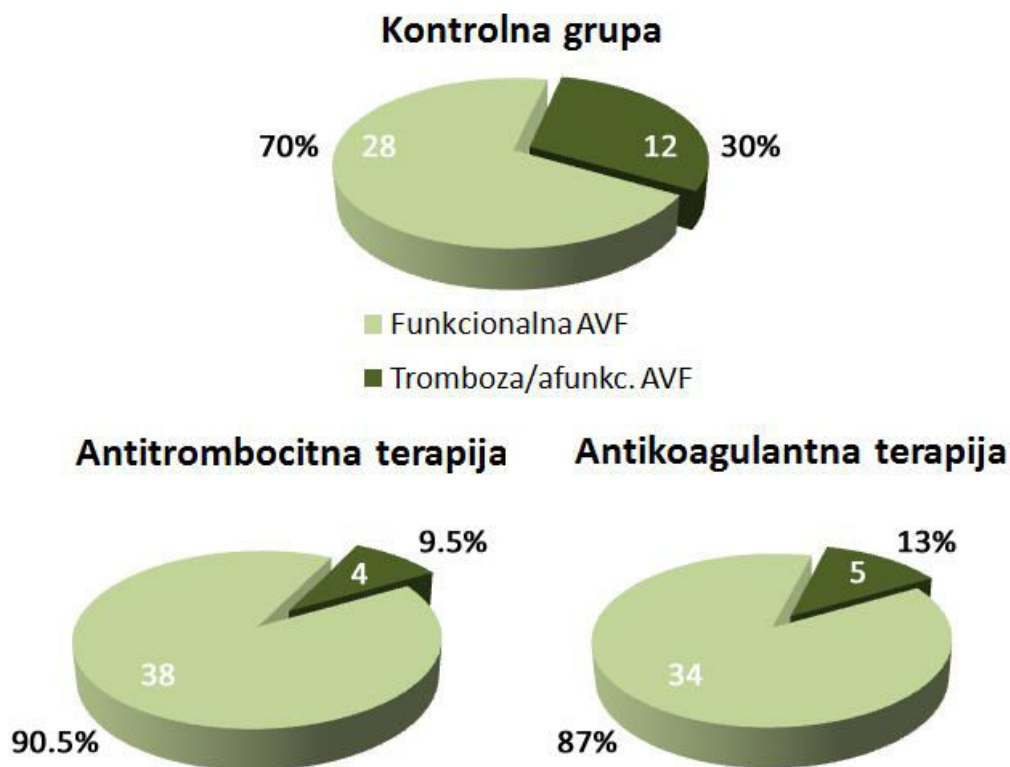
13.2. Zastupljenosti tromboza/afunkcionalnosti tokom maturacije AVF u ispitivanim grupama

Rezultati poređenja zastupljenosti tromboziranih/afunkcionalnih AVF za vreme njenog sazrevanja u ispitivanim grupama prikazano je u Tabeli 22. i na Grafikonu 3.

Između ispitivanih grupa u odnosu na broj tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom njene maturacije (12/40 vs. 4/42 vs. 5/39; **P=0.033**), ustanovljena je značajna statistička razlika.

Tabela 22. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom sazrevanja

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|----------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------|
| Funkcionalna AVF | 28/40 | 38/42 | 34/39 | |
| Tromboza/afunkc. AVF | 12/40 | 4/42 | 5/39 | 0.033 |



Grafikon 4. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom sazrevanja

Daljom analizom ispitivanih grupa, utvrđena je statistički značajna razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih AV fistula između grupe ispitanika koji su primali antitrombotičnu terapiju i kontrolne grupe ispitanika ($P=0.019$), prikazano u Tabeli 23. Zbog malog broja ispitanika u ispitivanim grupama, a u cilju procene značajnosti dobijenih rezultata Hi kvadrat testom, urađen je koeficijent Cramer's V, čija vrednost od 0.25 ukazuje na veoma slabu snagu statističkog testa (334). Daljom analizom, Fisher-ovim testom, za male uzorke potvrđeno je postojanje statističke značajnosti u broju tromboza između kontrolne grupe i grupe ispitanika koja je primala antitrombotičnu terapiju ($P=0.026$).

Kada testiramo razliku u broju tromboziranih/afunkcionalnih AVF između ispitanika kontrolne grupe i grupe ispitanika na antikoagulatnoj terapiji (Tabela 24) nije

dobijena statistički značajna razlika ni Hi kvadrat testom ($P=0.063$) niti Fisher-ovim testom (0.099).

S obzirom da ni jednim od primenjenih testova nije utvrđeno prisustvo statistički značajne razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih fistula između dve grupe kod kojih je primenjivan antitrombocitni ili antikoagulantni lek (Tabela 25), [Hi kvadrat test ($P=0.637$), Fisher-ov test ($P=0.09$)], postojanje razlike u efikasnosti dve primenjena antitrombozna režima, odnosno superiornost antikoagulantne terapije u poređenju sa antitrombocitnom nije utvrđena.

Tabela 23. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF u kontrolnoj (Grupa I) i grupi koja je primala antitrombocitnu terapiju (Grupa II)

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | P |
|---------------------|-----------------|------------------|--------------|
| Funkcionalna AVF | 28/40 | 38/42 | |
| Tromboza/afunkc.AVF | 12/40 | 4/42 | 0.019 |

Tabela 24. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF u kontrolnoj (Grupa I) i grupi koja je primala antikoagulantnu terapiju (Grupa III)

| | Grupa I N=40 | Grupa III N=39 | P |
|---------------------|-----------------|-------------------|-------|
| Funkcionalna AVF | 28/40 | 34/39 | |
| Tromboza/afunkc.AVF | 12/40 | 5/39 | 0.063 |

Tabela 25. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF u grupi koja je primala antitrombocitnu terapiju (Grupa II) i grupi koja je primala antikoagulantnu terapiju (Grupa III)

| | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | |
|---------------------|------------------|-------------------|-------|
| Funkcionalna AVF | 38/42 | 34/39 | |
| Tromboza/afunkc.AVF | 4/42 | 5/39 | 0.637 |

Posmatrajući broj tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi u odnosu na grupu ispitanika koja je primala antitromboznu profilaksu (12/40 vs. 9/81; **P=0.009**) zabeležena je značajna statistička razlika (Tabela 26).

Tabela 26. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi i objedinjenim grupama koje su primale antitrombozne lekove

| | Grupa I N=40 | Grupa II + Grupa III N=81 | P |
|----------------------|-----------------|------------------------------|--------------|
| Funkcionalna AVF | 28/40 | 71/81 | |
| Tromboza/afunkc. AVF | 12/40 | 9/81 | 0.009 |

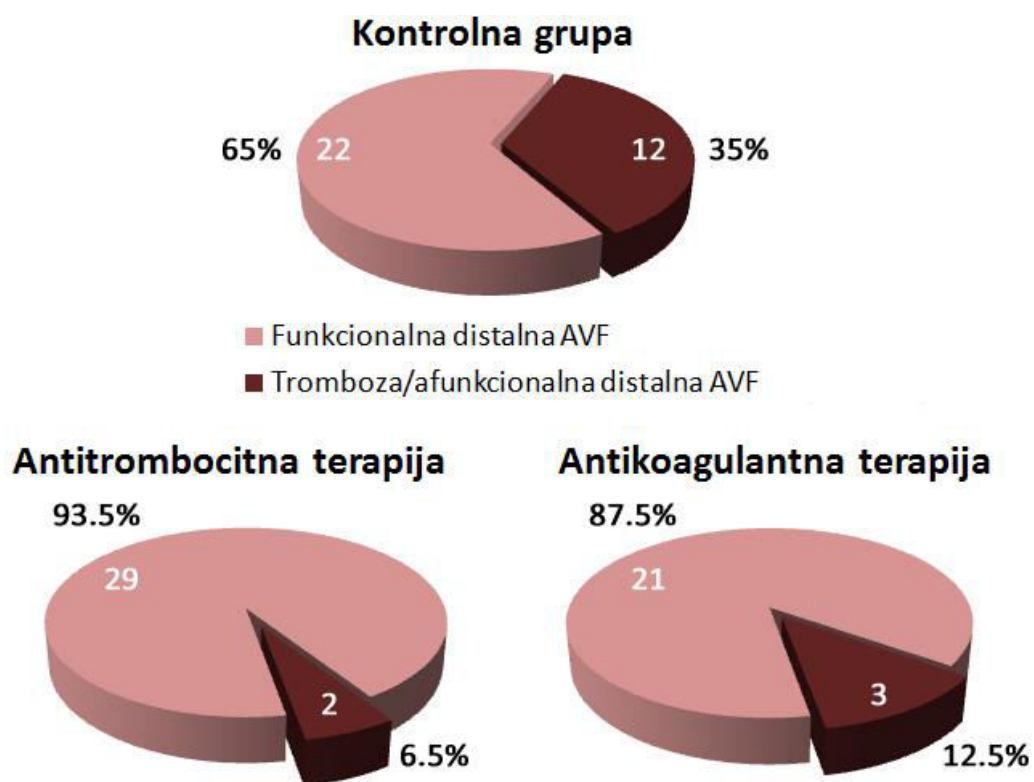
13.2.1. Zastupljenosti tromboza/afunkcionalnosti distalnih AVF tokom maturacije u ispitivanim grupama

U Tabeli 27. i na Grafikonu 4. su prikazani rezultati poređenja zastupljenosti tromboza/afunkcionalnosti distalnih AVF za vreme njihove maturacije.

Zastupljenost broja tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF za vreme njihove maturacije (12/33 vs 2/31 vs. 3/24; **P=0.008**) se između ispitivanih grupa značajno statistički razlikovala.

Tabela 27. Zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih i funkcionalnih distalnih AVF tokom sazrevanja u ispitivanim grupama

| | Grupa I n=34 | Grupa II n=33 | Grupa III n=24 | P |
|-------------------------------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------|
| Funkcionalna distalna AVF | 22/34 | 29/31 | 21/24 | |
| Tromboza/afunkcionalna distalna AVF | 12/34 | 2/31 | 3/24 | 0.008 |



Grafikon 5. Zastupljenost funkcionalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih AVF tokom sazrevanja

Analizom ispitivanih grupa, utvrđena je statistički značajna razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AV fistula između kontrolne grupe ispitanika i grupe ispitanika koji su primali antitrombocitnu terapiju (**P=0.005**), prikazano u Tabeli 28. I ovde je zbog malog broja ispitanika u ispitivanim grupama, a u cilju procene značajnosti dobijenih rezultata Hi kvadrat testom, urađen koeficijent Cramer's V, čija vrednost od 0.35

takođe ukazuje na veoma slabu snagu statističkog testa. Fisher-ovim testom, za male uzorke potvrđeno je postojanje statističke značajnosti u broju tromboza/afunkcionalnosti distalnih AVF između kontrolne grupe i grupe ispitanika koja je primala antitrombocitnu terapiju (P=0.006).

Testiranjem statističke razlike u broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF između ispitanika kontrolne grupe i grupe ispitanika na antikoagulatnoj terapiji (Tabela 29) nije dobijena statistički značajna razlika (P=0.051), kao ni između grupa ispitanika koje su primale antitrombocitnu, odnosno antikoagulantnu terapije (P=0.439) (Tabela 30). Fisher-ovim testom, potvrđen je izostanak statističke značajnosti u broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF između Grupe I i Grupe III (P=0.070), kao i između Grupe II i Grupe III (P=0.643).

Tabela 28. Zastupljenost funkcionalnih distalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF u kontrolnoj grupi (Grupa I) i grupi koja je primala antitrombocitnu terapiju (Grupa II)

| | Grupa I n=34 | Grupa II n=32 | P |
|-------------------------------------|-----------------|------------------|--------------|
| Funkcionalna distalna AVF | 22/34 | 29/31 | |
| Tromboza/afunkcionalna distalna AVF | 12/34 | 2/31 | 0.005 |

Tabela 29. Zastupljenost funkcionalnih distalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF u kontrolnoj grupi (Grupa I) i grupi koja je primala antikoagulantnu terapiju (Grupa III)

| | Grupa I n=34 | Grupa III n=24 | P |
|-------------------------------------|-----------------|-------------------|-------|
| Funkcionalna distalna AVF | 21/34 | 21/24 | |
| Tromboza/afunkcionalna distalna AVF | 12/34 | 3/24 | 0.051 |

Tabela 30. Zastupljenost funkcionalnih distalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF u grupi koja je primala antitrombocitnu terapiju (Grupa II) i grupi koja je primala antikoagulantnu terapiju (Grupa III)

| | Grupa II n=32 | Grupa III n=24 | P |
|-------------------------------------|------------------|-------------------|-------|
| Funkcionalna distalna AVF | 29/31 | 21/24 | |
| Tromboza/afunkcionalna distalna AVF | 2/31 | 3/24 | 0.439 |

Zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi u odnosu na grupu ispitanika koja je primala antitromboznu profilaksu (12/34 vs. 5/55; **P=0.002**) statistička se značajno razlikovala (Tabela 31).

Tabela 31. Zastupljenost funkcionalnih distalnih AVF i tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi i objedinjenim grupama koje su primale antitrombozne lekove

| | Grupa I N=34 | Grupa II + Grupa III N=55 | P |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------|--------------|
| Funkcionalna distalna AVF | 21/34 | 50/55 | |
| Tromboza/afunkc. distalna AVF | 12/34 | 5/55 | 0.002 |

13.2.2. Razlike u ispitivanim parametrima u podgrupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

Između podgrupa ispitanika kod kojih je došlo do tromboze/afunkcionalnosti AVF 21/121 (17.35%) i podgrupe ispitanika sa funkcionalno maturiranom AVF 90/121 (82.64%), značajna statistička razlika ispitanih hemostaznih parametara je bila prisutna u vrednostima agregabilnosti trombocita uz kolagen kao induktor (59.33 ± 33.1 vs. 75.04 ± 29.6 ; **P=0.033**), prikazano na Tabeli 41.

Takođe je značajna statistička razlika između podgrupa bolesnika kod kojih je došlo tromboze/afunkcionalnosti AVF i podgrupe ispitanika sa funkcionalno maturiranom AVF bila prisutna u odnosu na postojanje ranije tromboze (23/21 vs 19/100; **P=0.000**) kao i zastupljenosti venskih tromboza (9/21 vs. 2/100; **P=0.000**), Tabela 35.

Značajna statistička razlika je zabeležena i u zastupljenosti trombofilnih markera deficita PC (3/21 vs. 3/100; **P=0.030**), APC-R (4/21 vs. 5/100; **P=0.026**), prisustva antifosfolipidnih ACL IgM antitela (1/21 vs. 0/100; **P=0.028**), heterozigotnog polimorfizma FV G1691A 3/21 vs. 3/100; **P=0.03**) i homozigotne mutacije gena FII G20210A (1/21 vs. 0/100; **P=0.028**), između podgrupa bolesnika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF, prikazano na Tabeli 50.

U srednjim vrednostima (medijanama) demografskih podataka (starost i pol) (Tabela 25), kliničkim podacima ispitanika (etiologija HBB, dužina trajanja bolesti, pratećeg DM i hipertenzije, KVB, pušenje, vrednostima SP i DP, ITM) (Tabela 33), lekovima koji mogu uticati na funkcionalnost hemostaznog sistema (ACE inhibitori, statini, blokatori Ca kanala, beta blokatori) (Tabela 34), biohemijskih parametra bubrežne funkcije (MDRD, kreatinin, urea, ac.uricum, homocistein) (Tabela 36), parametara metabolizma glukoze i lipidskog statusa (glukoza, HgbA1c, ukupnog holesterola, triglicerida, LDL-holesterola, HDL-holesterola, nonHDL-holesterola) (Tabela 37), parametara inflamacije (broj leukocita, neutrofila, limfocita, NLR, CRP i PLR) (Tabela 38), osnovnih hemostaznih parametara (aPTT, PV, TV, fibrinogen, broj trombocita, MPV, %rP) (Tabela 39), markera endotelne disfunkcije i koagulacione aktivacije (vWF Ag, vWF Act, D dimer, FVIII) (Tabela 40), pokazatelja funkcionalnosti fibrinoliznog sistema (aktivator plazminogena, inhibitora plazminogena) (Tabela 42) i pokazatelja crvene krvne loze (broj eritrocita, Hgb, Hct) (Tabela 43), između podgrupa bolesnika sa

tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF, statistički značajna razlika nije dobijena ($P > 0.05$, za sve).

Tabela 32. Demografski podaci ispitanika u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|------------------|------------------------------|---------------------------|-------|
| Starost (godine) | 57.71±12.13 | 59.42±13.00 | 0,581 |
| Muškarci (n/N) | 13/21 | 67/100 | 0.654 |

Tabela 33. Klinički podaci ispitanika u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|---|------------------------------|---------------------------|-------|
| Etiologija HBB n/N DM i HTA Primarne bolesti bubrega | 10/21 | 39/100 | 0.464 |
| Dužina trajanja HBB (godine) | 5.0 (1.0-15.9) | 2.0 (1.00-3.17) | 0.237 |
| Dijabetes n/N | 7/21 | 29/100 | 0.698 |
| HTA n/N | 18/21 | 92/100 | 0.362 |
| KVB n/N | 7/21 | 23/100 | 0.319 |
| Pušenje n/N | 11/21 | 41/100 | 0.338 |
| SP (mmHg) | 148.75±19.73 | 149.42±20.81 | 0.895 |
| DP (mmHg) | 85.25±11.90 | 84.21±12.30 | 0.730 |
| ITM (kg/m ²) | 25.40±4.40 | 26.94±5.02 | 0.218 |

Legenda: DM-dijabetes melitus; HTA-arterijska hipertenzija; KVB-kardiovaskularne bolesti; SP-sistolni pritisak, DP-dijastolni pritisak; ITM-idealna telesna masa

Tabela 34. Podaci o lekovima koji mogu imati uticaj na funkcionalnost hemostaznog sistema u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|-----------------------------------|------------------------------|---------------------------|-------|
| ACE inhibitori | 10/21 | 39/100 | 0.464 |
| Statini | 1/21 | 16/100 | 0.178 |
| Blokatori Ca ⁺⁺ kanala | 15/21 | 68/100 | 0.758 |

Legenda: ACE inhibitori - inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima; Blokatori Ca⁺⁺ kanala – blokatori kalcijumovih kanala

Tabela 35. Klinički podaci ispitanika u odnosu na ranije trombozne komplikacije u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|---------------------------------|------------------------------|---------------------------|--------------|
| Ranije tromboze n/N | 23/21 | 19/100 | 0.000 |
| Recidivantne tromboze n/N | 0/21 | 5/100 | 0.295 |
| Starost u vreme tromb. (godine) | 58.72±10.92 | 53.17±9.65 | 0.17 |
| Arterijske tromboze n/N | 5/21 | 18/100 | 0.537 |
| Venske tromboze n/N | 9/21 | 2/100 | 0.000 |
| Pozitivna porodična ananeza n/N | 1/21 | 6/100 | 0.825 |

Tabela 36. Poređenje biohemijskih parametra bubrežne funkcije u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|------------------------------------|------------------------------|---------------------------|-------|
| MDRD (ml/min/1.73 m ²) | 8.27(6.88 - 10.42) | 7.51(6.83 - 8.40) | 0.351 |
| kreatinin (μmol/l) | 610.33±211,16 | 716.88±337.76 | 0.168 |
| urea (mmol/l) | 26.91±8.00 | 29.00±10.94 | 0.408 |
| ac.uricum (μmol/l) | 416.62±105.00 | 448.71±149.10 | 0.352 |
| Homocistein(μmol/l) | 24.40±9.00 | 27.962±11.90 | 0.233 |

Legenda: MDRD- Modification of Diet in Renal Disease jednačina za procenu JGF;
ac.uricum-mokraćna kiselina

Tabela 37. Parametri metabolizma glukoze, lipidski status u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc.AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------|
| Glukoza (mmol/l) | 5.50±1.63 | 5.60±2.25 | 0.891 |
| HbA _{1c} (mmol/mol) | 35.42±7.46 | 38.61±11.86 | 0.278 |
| UK holesterol (mmol/l) | 4.53±1.23 | 4.95±1.27 | 0.169 |
| non-HDL- holesterol (mmol/l) | 3.56 ± 1.25 | 3.87 ±1.56 | 0.40 |
| LDL-holesterol (mmol/l) | 2.92±1.05 | 3.10±1.12 | 0.537 |
| HDL-holelesterol (mmol/l) | 0.94± 0.27 | 0.93 ±0.32 | 0.93 |
| Trigliceridi (mmol/l) | 1.55 (1.18 - 1.94) | 1.81 (1.58 - 1.98) | 0.336 |

Legenda: HbA_{1c}-hemoglobin A_{1c}

Tabela 38. Poređenje parametara inflamacije u grupama ispitanika sa tromboziranom/ afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF N=21 | Funkcionalna AVF N=100 | P |
|------------------------------------|------------------------------|---------------------------|-------|
| Leukociti (n) x10 ⁹ /l | 8.90±4.10 | 7,90±5.00 | 0.407 |
| Neutrofili (n) x10 ⁹ /l | 5.62±2.47 | 4.83±2.32 | 0.250 |
| Limfociti (n) x10 ⁹ /l | 1.80±1.00 | 1.55±0.57 | 0.202 |
| NLR | 3.89±2.41 | 3.64±2,90 | 0.768 |
| CRP (mg/l) | 7.4(2.18 - 21.45) | 9.2(4.95 - 16.05) | 0.363 |
| PLR | 180.24±90.46 | 155.61±61.90 | 0.209 |

Legenda: NLR-odnos broja neutrofila i limfocita; CRP- C reaktivni protein; PLR-odnos broja trombocita i limfocita

Tabela 39. Poređenje osnovnih hemostaznih parametara u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|-------------------------------------|------------------------------|---------------------------|-------|
| aPTT [R] | 0.93 (0.86 - 1.03) | 0.95 (0.91-1.00) | 0.712 |
| PT [R] | 0.99 (0.96-1.04) | 1.01 (0.97-1.02) | 0.470 |
| TT [R] | 0.96 (0.91-1.03) | 0.98 (0.94 - 1.01) | 0.643 |
| Fibrinogen(g/L) | 4.40±1.38 | 4.77±1.28 | 0.200 |
| Trombociti (n) x 10 ⁹ /l | 226.0 (195.13-348.07) | 205.0 (190.48-244.59) | 0.022 |
| MPV (fl) | 8.10±1.06 | 8.55±1.02 | 0.131 |
| %rP (%) | 3.4(2.18-4.93) | 3.7(2.63-4.69) | 0.422 |

Legenda: aPTT-aktivisano parcijalno tromboplastinsko vreme; PT-protrombinsko vreme; TT-trombinsko vreme; MPV-srednji volumen trombocita; %rP-procent retikulisanih trombocita;

Tabela 40. Poređenje markera endotelne disfunkcije i koagulacione aktivacije u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|-----------------|------------------------------|---------------------------|-------|
| vWF Act [%] | 191.80±61.01 | 189.63±85.40 | 0.913 |
| vWF Ag [%] | 240.37±78.54 | 237.02±97.39 | 0.88 |
| D dimer [µg/ml] | 654.0 (358.09 - 1139.51) | 649.0 (487.86- 750.09) | 0.225 |
| F VIII [%] | 210.06±92.00 | 201.92±124.44 | 0.777 |

Legenda: vWF Act – aktivnost von Willebrand-ovog faktora, vWF Ag - antigen von Willebrand-ovog faktora

Tabela 41. Poređenje parametara agregabilnosti trombocita u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|-------------|------------------------------|---------------------------|--------------|
| Ag ADP (U) | 81.14±28.80 | 86.81±31.00 | 0.443 |
| Ag ASPI (U) | 86.33±41.14 | 103.23±44.20 | 0.110 |
| Ag Coll (U) | 59.33±33.11 | 75.04±29.61 | 0.033 |
| Ag TRAP (U) | 104.19±33.24 | 111.93±35.03 | 0.356 |

Legenda; Ag ADP – agregacija trombocita indukovana adenozin difosfatom ; Ag ASPI – agregacija trombocita indukovana arahidonskom kiselinom; Ag Coll – agregacija trombocita indukovana kolagenom

Tabela 42. Poređenje pokazatelja funkcionalnosti fibrinoliznog sistema između grupa ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc. AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|--|------------------------------|---------------------------|-------|
| aktivatori plazminogena (jed. urokinaze) | 7.65 (6.64-8.66) | 7.02 (6.50-7.22) | 0.233 |
| Inhibitor plazminogena (%) | 100.5 (88.0-104.12) | 101.0 (99.0- 104.0) | 0.216 |

Tabela 43. Poređenje pokazatelja crvene krvne loze između grupa ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkc.AVF n=21 | Funkcionalna AVF n=100 | P |
|-----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-------|
| Eritrociti (n) $\times 10^6/l$ | 3.19 (2.88-3.62) | 3.18 (3.12-3.30) | 0.963 |
| Hemoglobin (g/dl) | 9.90 \pm 1.49 | 9.93 \pm 1.24 | 0.951 |
| Hct (%) | 29.04 \pm 4.81 | 28.70 \pm 6.40 | 0.824 |

Legenda: Hct - hematokrit

13.2.3. Analiza povezanosti pojedinačnih parametara za funkcionalnost AVF kod svih ispitivanih pacijenata

Prediktivni potencijal pojedinačnih parametara za maturaciju AVF ispitan je univarijantnom logističkom regresionom analizom, što je prikazano u Tabeli 44. Analiza je urađena posmatranjem uticaja pojedinačnih parametara na funkcionalnost fistule.

Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na maturaciju fistule, zapazili smo da su ispitanici koji su primali antitromboznu terapiju imali 3 puta veću šansu za funkcionalno maturiranu AVF [OR 3.45 (1.3-9.03)] u odnosu na bolesnike bez terapije.

Ispitanici koji su imali prethodne tromboze su imali višestruko povišen rizik [OR 6.92 (2.51-19.06)] za nastanak tromboze/afunkcionalnost AVF tokom maturacije.

Tabela 44. Univarijantna logistička regresiona analiza povezanosti pojedinačnih parametara sa maturacijom AVF kod svih pacijenata

| PARAMETAR | <i>ISHOD – maturacija AVF</i> | | |
|---|-------------------------------|-------------------|--------------|
| | Odds ratio | 95% CI | P |
| Antitrombozna terapija | 3.45 | 1.30-9.03 | 0.013 |
| Etiologija HBB – primarne bolesti bubrega | 1.42 | 0.55-3.66 | 0.46 |
| Etiologija HBB – DMT2 i HTA | 0.85 | 0.29-2.45 | 0.76 |
| Dijabetes | 1.22 | 0.44-3.34 | 0.69 |
| HTA | 0.52 | 0.13-2.15 | 0.37 |
| KVB | 1.67 | 0.60-4.64 | 0.32 |
| Trombofilija | 1.22 | 0.44-3.34 | 0.693 |
| Pol | 1.25 | 0.472-3.31 | 0.654 |
| Godine života | 0.99 | 0.95-1.03 | 0.578 |
| Dužina trajanja bolesti | 1.03 | 0.98-1.07 | 0.24 |
| Gojaznost | 1.75 | 0.46-6.58 | 0.41 |
| Ranije tromboze | 6.92 | 2.51-19.06 | 0.00 |
| Pušenje | 1.58 | 0.62-4.07 | 0.34 |

13.2.4. Analiza povezanosti pojedinačnih parametara za funkcionalnost distalne AVF

Prediktivni potencijal pojedinačnih parametara za funkcionalnost distalne AVF ispitan je univarijantnom logističkom regresionom analizom, što je prikazano u Tabeli 45. Analiza je uradjena tako da posmatra uticaj pojedinačnih parametara na funkcionalnost fistule.

Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na rizik od pojave tromboze/afunkcionalnosti distalne AVF, zapažamo da primena antitrombozne terapije [OR 5.4 (CI 1.7 - 17.35)] petostruko snižava rizik za nastanak tromboze/ afunkcionalnosti distalne AVF, odnosno da primena antitrombozne terapije petostruko povećava šansu za adekvatnu maturaciju distalne AVF.

Ispitanici koji su imali aterosklerotske KVB [OR 0.32 (0.1-0.98)] ili ranije tromboze [OR 0.14 (0.04-0.44)] su imali za 68% ili 86% manju verovatnoću za adekvatnu maturaciju distalne AVF (335).

Tabela 45. Univarijantna logistička regresiona analiza povezanosti pojedinačnih parametara sa maturacijom distalne AVF

| PARAMETAR | <i>ISHOD –Maturacija distalne AVF</i> | | |
|---|---------------------------------------|------------------|--------------|
| | Odds ratio | 95% CI | P |
| Antitrombozna terapija | 5.45 | 1.7-17.35 | 0.004 |
| Etiologija HBB – primarne bolesti bubrega | 0.74 | 0.31-2.67 | 0.73 |
| Etiologija HBB – DM I HTA | 0.85 | 0.29-2.45 | 0.76 |
| Dijabetes | 0.8 | 0.24-2.58 | 0.71 |
| HTA | 1.46 | 0.26-7.99 | 0.65 |
| KVB | 0.32 | 0.1-0.98 | 0.046 |
| Trombofilija | 1.2 | 0.41-3.42 | 0.74 |
| Pol | 1.6 | 0.53-4.72 | 0.41 |
| Godine života | 0.98 | 0.94-1.1 | 0.51 |
| Dužina trajanja bolesti | 1.02 | 0.97-1.06 | 0.38 |
| Gojaznost | 1.25 | 0.31-5.02 | 0.75 |
| Ranije tromboze | 0.14 | 0.04-0.44 | 0.00 |
| Pušenje | 1.76 | 0.61-5.12 | 0.29 |

13.3. Zastupljenost vrednosti biomarkera poremećene endotelne aktivacije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema

Zastupljenost vrednosti biomarkera endotelne disfunkcije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema prikazna je na Tabeli 46.

U ispitivanom uzorku 58.3% ispitanika je imalo povišene vrednosti VWF Act, dok je 83.3 % ispitanika imalo povišene vrednosti vWF Ag.

Od 121 ispitanika njih 2 su imali broj trombocita $<100 \times 10^9/l$ (najmanji broj trombocita iznosio je $74 \times 10^9/l$), dok je broj trombocita $> 400 \times 10^9/l$ bio prisutan kod 4 ispitanika (najveći broj trombocita iznosio je $669 \times 10^9/l$).

Povećana bazalna agregabilnost trombocita (TRAP test) bila je povišena kod 10%, a snižena kod 30.2 % ispitanika. Povišena agregabilnost trombocita uz ADP kao induktor bila je zabeležena kod 14.3 % bolesnika, dok je snižena agregabilnost uz isti induktor bila zastupljena u istom procentu. Agregabilnost trombocita uz arahidonsku kiselinu (ASPI test) je bila povišena kod 18.5 % ispitanika, dok je snižena agregabilnost bila prisutna kod 30.2 % bolesnika. Povišena agregabilnost trombocita uz kolagen kao induktor bila je zastupljena u 15.1 %, a snižena kod 31.9 % ispitanika.

Skraćeno aPTT, $R \leq 0.83$ je bilo prisutno kod 10.7 % ispitanika.

Prisustvo hiperfibrinogenemije u ispitivanoj grupi bilo je zabeleženo kod 38 % ispitanika, dok je povišena vrednost D dimera bila prisutna kod 85.7 % ispitanika.

Snižene vrednosti aktivatora plazminogena (aPL) bile su zastupljene kod 82.5 % bolesnika, dok su povišene vrednosti plazmin inhibitora bile simbolično prisutne.

Povišene vrednosti FII bile su prisutne kod 22.5 % ispitanika, FVII kod 46 %, FX kod 35 %, FVIII kod 62.5 %, FIX kod 55 %, FXI kod 41 % i FXII kod 10 % bolesnika.

Tabela 46. Zastupljenost vrednosti biomarkera endotelne disfunkcije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema

| | Povišene vrednosti (% n/N) | Snižene vrednosti (% n/N) |
|--|----------------------------|---------------------------|
| vWF Act [%] | 58.3 | - |
| vWF Ag [%] | 83.3 | - |
| Trombociti (n) x 10 ⁹ /l | 2/121 | 4/121 |
| Ag ADP (U) | 14.3 | 14.3 |
| Ag ASPI (U) | 18.5 | 30.2 |
| Ag Coll (U) | 15.1 | 31.9 |
| Ag TRAP (U) | 10 | 30.2 |
| aPTT [R ≤ 0.83] | 10.7 | - |
| Fibrinogen (g/L) | 38 | - |
| D dimer [μg/ml] | 85.7 | - |
| aktivatori plazminogena (jed. urokinaze) | - | 82.5 |
| F II [%] | 22.5 | - |
| F VII [%] | 46 | - |
| F X [%] | 35 | - |
| FVIII [%] | 62.5 | - |
| F IX [%] | 55 | - |
| F XI [%] | 41 | - |
| F XII [%] | 10 | - |

13.4. Trombofilija, zastupljenost, vrste i ishod sazrevanja AVF u

ispitivanim grupama

13.4.1. Biološki markeri aktivacije koagulacione komponente hemostaznog sistema u grupi ispitanika sa trombofilijom

Trombofilija je bila prisutna u 59/121 (48.8%) ispitanika.

U odnosu na markere aktivacije koagulacione komponente hemostaznog sistema i inflamatorne pokazatelje, između podgrupa ispitanika sa ili bez trombofilije statistički značajna razlika je bila prisutna u vrednostima koncentracije FVIII (170.35±103.97 vs. 235.26±124.80; **P=0.02**) i odnosa trombociti/limfociti (181±64.58 vs. 148.11±66.15; **P=0.026**). Ostali parametri hemostaznog sistema između ove dve podgrupe ispitanika nisu dostigle statistički značajnu razliku, Tabela 47.

Tabela 47. Razlike u hemostaznim parametrima u podgrupama ispitanika sa ili bez trombofilije

| | Tromobofilija n=59 | Nema trombofiliju n=62 | P |
|---|--------------------------|---------------------------|--------------|
| Trombociti (n) x 10 ⁹ /l | 218 (192.69-275.91) | 204.5 (188.17-246.57) | 0.982 |
| MPV (fl) | 8.33±1.07 | 8.55±1.02 | 0.325 |
| %rP (%) | 3.36 (2.267 - 4.24) | 3.69 (2.460 - 5.18) | 0.666 |
| PLR | 168.42 (135.32-211.6) | 125 (114.91-145.1) | 0.026 |
| aPTT [R] | 0.96 (0.913 - 1.03) | 0.94 (0.90-0.97) | 0.064 |
| Fibrinogen | 4.7 (4.19-5.01) | 4.62 (4.07-4.99) | 0.630 |
| vWF Act Povišen n/N | 174.3 (152.16-188.65) | 172.3 (150.92-201.58) | 0.846 |
| vWF Ag Povišen n/N | 217.6 (200.1-240.1) | 216 (200.58 - 252.01) | 0.913 |
| D dimer [µg/ml] | 654 (461.50-790.68) | 649 (432.04 -779.55) | 0.368 |
| F VIII [%] | 170.7 (132.9-220.43) | 223.1 (187.4-258.09) | 0.02 |
| aktivatori plazminogena (jed. urokinaze) | 7.22 (6.78-8.28) | 6.84 (6.5-7.22) | 0.503 |
| Inhibitor plazminogena (%) | 101 (98-105.35) | 100 (98-104) | 0.490 |
| Ag ADP (U) | 88.46±31.87 | 83.20±29.23 | 0.350 |
| Ag ASPI (U) | 102.93±45.22 | 97.62±42.94 | 0.512 |
| Ag Coll (U) | 77.36±30.58 | 67.27±30.25 | 0.073 |
| Ag TRAP (U) | 112.97±36.16 | 108.20±33.36 | 0.456 |

13.4.2. Trombofilija i ishod sarzevanja AVF u ispitivanim grupama

U odnosu na lokalizaciju AVF, u podgrupi ispitanika sa trombofilijom i tromboziranom/afunkcionalnom AVF, njih 8/11 su pripadale distalnim AVF, 3/11 proksimalnim AVF, dok je u podgrupi ispitanika bez trombofilije i tromboziranom/afunkcionalnom AVF, njih 9/10 imalo distalnu, a 1/10 proksimalnu AVF.

U pogrupi od 59 bolesnika sa trombofilijom, 19/59 (32.2 %) ispitanika je pripadalo kontrolnoj Grupi I koja nije primala antikoagulantne lekove tokom maturacije AVF, 18/59 (30.5 %) ispitanika Grupi II koja je primala Ticlodix tbl, dok je u Grupi II koja je je primala s.c Fraxiparin bilo 22/59 (37.3 %) ispitanika sa trombofilijom. Od 11 (18.6%) ispitanika kod kojih se razvila tromboza/afunkcionalnost AVF, a kod kojih je ujedno bila prisutna i trombofilija, njih 5 je pripadalo Grupi I, 2 ispitanika Grupi II i 4 ispitanika Grupi III. Od 8 ispitanika kod kojih se razvila tromboza/afunkcionalnost distalne AVF, a kod kojih je bila zastupljena i trombofilija njih 5 je pripadalo Grupi I, 1 ispitanik Grupi II i 2 ispitanika Grupi III. Od 3 ispitanika kod kojih je bila prisutna tromboza/ afunkcionalnost proksimalne AVF, 1 je pripadao Grupi II, a 2 ispitanika Grupi III.

U podgrupi od 62 ispitanika bez trombofilije, u kontrolnoj Grupi I je bio 21/62 (33.9 %) ispitanik, njih 24/62 (38.7 %) je pripadalo Grupi II, dok je u Grupi III bilo 17/62 (27.4 %) ispitanika koji nisu imali trombofiliju. Od 10 (16%) bolesnika kod kojih se razvila tromboza/afunkcionalnost AVF, a koji nisu imali trombofiliju, njih 7 je pripadalo kontrolnoj grupi koja nije primala antikoagulantne lekove, 2 ispitanika Grupi II, a 1 ispitanik Grupi II. Od 9 bolesnika kod kojih se razvila tromboza/afunkcionalnost distalne AVF, a kod kojih je bila zastupljena i trombofilija njih 7 je pripadalo Grupi I, 1 ispitanik Grupi II i 1 ispitanik Grupi III. Jedan ispitanik kod koga je bila prisutna tromboza/afunkcionalnost proksimalne AVF pripadao je Grupi I (Tabela 48).

Tabela 48. Zastupljenost ukupno tromboziranih/afunkcionalnih AVF i posebno tromboziranih/afunkcionalnih distalnih i proksimalnih AVF kod ispitanika sa i bez trombofilije u odnosu na primenjenu terapiju tokom sazrevanja AVF

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 |
|--|-----------------|------------------|-------------------|
| Trombofilija (+) (59/121) | 19 | 18 | 22 |
| Tromboza/afunkcionalna AVF (11/21) | 5/11 | 2/11 | 4/11 |
| Tromboza/afunkc. distalna AVF (8/11) | 5/8 | 1/8 | 2/8 |
| Tromboza/afunkc. proksimal. AVF (3/11) | 0/3 | 1/3 | 2/3 |
| Trombofilija (-) 62/121 | 21 | 24 | 17 |
| Tromboza/afunkcionalna AVF (10/21) | 7/10 | 2/10 | 1/10 |
| Tromboza/afunkc. distalna AVF (9/10) | 7/9 | 1/9 | 1/9 |
| Tromboza/afunkc. proksimal. AVF (1/10) | 1/1 | 0/1 | 0/1 |

U grupi bolesnika sa trombofilijom nije zabeleženo prisustvo statistički značajne razlike u efikasnosti primenjenih antitromboznih režima merene učestalošću tromboza/afunkcionalnosti AVF u odnosu na bolesnike sa trombofilijom koji nisu primali antitromboznu terapiju (5/19 vs. 2/18 vs. 4/22; P=0.493). Takođe kod ispitanika sa trombofilijom nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti primene antitromboznih lekova merene učestalošću tromboza/afunkcionalnih distalnih AVF u odnosu na ispitanike sa trombofilijom, ali koji nisu primali antitrombozne lekove (7/21 vs. 1/24 vs. 1/17; P=0.136). Statistički značajna razlika u efikasnosti primene antitromboznih lekova između grupa ispitanika sa trombofilijom merena učestalošću tromboza/afunkcionalnih proksimalnih AVF u odnosu na ispitanike sa trombofilijom koji nisu primali antitromboznu profilaksu takođe nije utvrđena (0/19 vs. 1/18 vs. 2/22; P=0.415).

U grupi ispitanika bez trombofilije utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u učestalosti tromboza/afunkcionalnosti AVF između grupe sa i bez primene antitromboznih lekova kako u ukupnom broju tromboziranih/afunkcionalnih AVF (7/21

vs. 2/24 vs. 1/17; **P=0.030**) tako i u ukupnom broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF (7/21 vs. 1/24 vs. 1/17; **P=0.010**). Takođe nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti primene antitromboznih lekova merene učestalošću tromboza/ afunkcionalnih proksimalnih AVF u odnosu na ispitanike bez trombofilije koji nisu primali antitrombozne lekove (1/21 vs. 0/24 vs. 0/17; P=0.370) (Tabela 49).

Tabela 49. Upoređivanje efikasnosti primenjenih preventivnih režima u podgrupi ispitanika sa i bez trombofilije u odnosu na ukupan broj tromboziranih/afunkcionalnih AVF, u odnosu na ukupan broj tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF i u odnosu na ukupan broj tromboziranih/afunkcionalnih proksimalnih AVF

| | Grupa I N=40 | Grupa II N=42 | Grupa III N=39 | P |
|--|-----------------|------------------|-------------------|--------------|
| Trombofilija (+) (59/121) | 19 | 18 | 22 | |
| Tromboza/afunkc. AVF (11/21) | 5/19 | 2/18 | 4/22 | 0.493 |
| Tromb./afunkc. distalna AVF (8/11) | 5/19 | 1/18 | 2/22 | 0.136 |
| Tromb./afunkc. proksi. AVF (3/11) | 0/19 | 1/18 | 2/22 | 0.415 |
| Trombofilija (-) (62/121) | 21 | 24 | 17 | |
| Tromboza/afunkc. AVF (10/21) | 7/21 | 2/24 | 1/17 | 0.030 |
| Tromb./afunkci. distalna AVF (9/10) | 7/21 | 1/24 | 1/17 | 0.010 |
| Tromb./afunkc. proksi. AVF (1/10) | 1/21 | 0/24 | 0/17 | 0.370 |

13.4.3. Vrsta trombofilije i ishod sazrevanja AVF

Distribucija trombofilija i ishoda sazrevanja je bila sledeća: APS sa jednim pozitivnim antifosfolipidnim antitelom je imao 21 ispitanik (19 LA, 1 anti β_2 GPI IgG, 1 anti β_2 GPI IgM) - kod 2 ispitanika je došlo do tromboze AVF; APS sa dva pozitivna antifosfolipidna antitela je bio prisutna kod 1 ispitanika (LA + ACL IgG); udruženu trombofiliju je imalo 18 ispitanika (tromboza AVF je bila prisutna kod 6 ispitanika);

izolovani deficit AT je imalo 8 ispitanika (kod 1 ispitanika je bila prisutna tromboza AVF); izolovani deficit PC je bio prisutna kod 1 ispitanika; izolovani deficit PS kod 4 ispitanika; izolovani genski polimorfizam FV Leiden heterozigot 4 ispitanika (1 ispitanik je dobio trombozu AVF); dok je izolovanu APC-R imalo 2 ispitanika (1 ispitanik je imao trombozu AVF).

U 18 ispitanika sa kombinovanom trombofilijom među kojima je, kako je gore navedeno, tromboza AVF bila prisutna kod njih 6, heterozigotna mutacija FV Leiden bila je zastupljena u njih dvoje (kod jednog ispitanika udružena sa anti β_2 GPI IgM antifosfolipidnim antitelom, a kod drugog sa pozitivnim LA) i oboje su imali trombozu AVF, dok je homozigotna mutacija FII G20210A bila prisutna u obliku udružene trombofilije sa deficitom PS i pozitivnim LA kod jednog ispitanika koji je takođe imao trombozu AVF. Kod ostalih slučajeva udruženih trombofilija sa trombozom AVF, kod jednog ispitanika je bio prisutan istovremeni deficit PC i AT uz pozitivno ACL IgM antifosfolipidno antitelo, kod drugog udruženi deficit PS, PC i AT, a kod trećeg istovremeni deficit PS uz pozitivan LA. Iako je zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti AVF u bolesnika sa kombinovanom trombofilijom češća u odnosu na ispitanike koji su imali drugu vrstu ili uopšte nisu imali trombofiliju (6/18 vs. 15/103; $P=0.052$), ona nije dostigla statistički značajnu vrednost.

Zastupljenost pojedinih trombofilnih markera u grupama ispitanika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF prikazana je u Tabeli 50.

Zastupljenost deficita PC (3/21 vs. 3/100; $\mathbf{P=0.030}$), APC-R (4/21 vs. 5/100; $\mathbf{P=0.026}$), prisustvo antifosfolipidnih ACL IgM antitela (1/21 vs. 0/100; $\mathbf{P=0.028}$), heterozigotnog polimorfizma FV G1691A 3/21 vs. 3/100; $\mathbf{P=0.03}$) i homozigotne mutacije gena FII G20210A (1/21 vs. 0/100; $\mathbf{P=0.028}$) se statistički značajno razlikovalo između grupa sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF tokom njene maturacije.

Zastupljenost ostalih markera trombofilije LA, ACL IgG, anti β_2 GPI IgG i IgM, AT i PS se nije statistički značajno razlikovala između grupa sa tromboziranom/ afunkcionalnom i funkcionalnom AVF tokom njene maturacije.

Tabela 50. Zastupljenost markera trombofilije u grupama ispitanika sa tromboziranom/ afunkcionalnom i funkcionalnom AVF

| | Tromboza/afunkcionalna AVF | Funkcionalna AVF | P |
|-----------------------|----------------------------|------------------|--------------|
| Tromobofilija | 11/59 | 10/62 | 0.715 |
| LA | 6/21 | 28/100 | 0.958 |
| ACL Ig G | 0/21 | 1/100 | 0.645 |
| Abeta 2 IgG | 0/21 | 1/100 | 0.645 |
| Abeta 2 IgM | 1/21 | 4/100 | 0.873 |
| AT | 3/21 | 10/100 | 0.564 |
| PS | 2/21 | 11/100 | 0.843 |
| PC | 3/21 | 3/100 | 0.030 |
| FV G1691A | 3/21 | 3/100 | 0.03 |
| FII G20210A | 1/21 | 0/100 | 0.028 |
| APC-R | 4/21 | 5/100 | 0.026 |
| ACL IgM | 1/21 | 0/100 | 0.028 |
| Udružena trombofilija | 6/18 | 15/103 | 0.052 |

14. DISKUSIJA

Stalnom porastu prevalence HBB (u svetskim razmerama iznosi 8 – 16%), najviše doprinose porast broja obolelih od DMT2 (dijabetesna nefropatija), sve veći broj gojaznih, kao i povećanje populacije starijih osoba (30).

Rast prevalencije HBI povećava potrebe za zamenu bubrežne funkcije, što između ostalog podrazumeva i obezbeđivanje stalnog i funkcionalnog vaskularnog pristupa za hemodijalizu, pri čemu je kreiranje AVF u odnosu na druge vrste hemodijaliznih pristupa najpreporučljivije zbog najdužeg trajanja njene funkcionalne prohodnosti (patentnosti), najmanje udruženosti sa morbiditetom i mortalitetom i najnižim troškovima za zdravstveno osiguranje (336).

Kreiranje AVF predstavlja situiranje nefiziološke vaskularne tvorevine, konduita kroz koji protiče velika zapremina krvi, u disfunkcionalno (»bolesno«) vaskularno korito koji treba da započne proces adaptacije (»remodeliranja«) na novouspostavljene hemodinamske uslove da bi tokom procesa sazrevanja dostigla izgled čvrste kolagene cevi tj. postala funkcionalna. Činjenica da su u adaptacioni proces uključena dva različita tipa krvnih sudova arterija i vena, povezana šivenjem anastomoze, poduhvat čini dodatno komplikovanim (337).

Složeni biološki mehanizmi koji utiču na sazrevanje AVF uspostavljaju se u sredini sa već prisutanim poremećajima metabolizma u HBB i uz mnoštvo faktora rizika, što onemogućava anticipaciju postoperativnog ishoda, i pored primene preporuka iz stručnih vodiča. O prednostima AVF u odnosu na AVG i CVK prisutan je opšti stručni konsenzus i u odnosu na preživljavanje bolesnika [upotreba CVK za hemodijalizu (godišnji mortalitet 16.1%) je udružena sa 47% većim rizikom od smrti u odnosu na korišćenje AVF (11.7%), dok je mortalitet bolesnika sa AVG između ove dve vrednosti (14.2%)], i u odnosu na kvalitet života i manju zastupljenosti komplikacija (tromboza,

infekcija, prateće hospitalizacije). Ove činjenice motivišu na stručno angažovanje u pravcu podrške ovakvom stavu, posebno imajući na umu da je hemodijaliza najzastupljeniji način lečenja bolesnika sa HBI i da je u našoj zemlji preko 77% od ukupnog broja bolesnika lečenih metodama za zamenu bubrega bilo na hemodijalizi (338, 339, 41). Činjenica da je stopa primarnog poremećaja funkcije AVF (28-53%, a u nekim ispitivanjima i preko 60%) mnogo veća u poređenju sa AVG ne umanjuje prednosti AVF, jer iskoristljivost uspešno sazrele AVF preko koje je započela hemodijaliza traje duže i iziskuje manje intervencija u održavanju patentnosti od AVG (340, 341, 342). Sa stanovišta lokalizacije, patentnost distalne AVF nakon 1 godine iznosi 56-79%, dok je patentnost proksimalne AVF nešto veća 70-84% (337).

Mada je praktičan klinički kriterijum za sazrelu AVF ustanovljenim od strane The North American Vascular Access Consortium (324) doprineo preciznijem definisanju uspešno maturirane AVF (»ona koja se uspešno koristi kanulacijom sa dve igle za najmanje 2/3 dijaliznih tretmana tokom jednog meseca i koja obezbeđuje protok za efikasnu HD unutar propisanog vremena«), definicije nefunkcionalne AVF su manje jasne zbog različitih vrsta (tipova) i obima (stepena) poremećene funkcionalnosti. Novija istraživanja su definisala 3 vrste poremećaja funkcije AVF: rana tromboza i neuspelo maturirana AVF (tokom sazrevanja AVF, tzv. primarna malfunkcija) i kasna nefunkcionalnost AVF (tzv. sekundarna malfunkcija, nastala u eksploatacionom periodu AVF) (343).

Efikasna hemodijaliza je moguća jedino ako je vaskularni pristup za hemodijalizu funkcionalan, tako da AVF predstavlja i »liniju života«, a i »Ahilovu tetivu« za bolesnike sa HBI.

Trombozne komplikacije predstavljaju u 80% slučajeva razlog disfunkcije AVF. Najčešći razlog razvoja tromboze predstavlja poremećaj hemodinamskih uslova u vidu

smanjenja protoka u nivou utočne arterije, konduita i/ili otočne vene koje je uzrokovano internim i eksternim činiocima. Najčešći interni razlog (u 90% slučajeva) je VNH (mnogo ređe ANH) ili ubrzani razvoj aterosklerotskog plaka, dok se od spoljašnjih - nestenozantnih razloga najčešće navode hipotenzija i hipovolemija, hiperkoagulabilnost i spoljna kompresija (344).

Farmakološki pristup prevencije rane tromboze AVF, najčešće se oslanja na kratkotrajnu upotrebu antitrombocitnih lekova pojedinačno ili međusobno kombinovanih, ili korišćenih sa adjuvantnima. Korišćenje oralnih antikoagulanasa je ograničeno zbog krvarećih komplikacija dok su iskustva profikatičke primene parenteralnih antikoagulanasa UHF i LMWH oskudna.

Motiv za sprovođenje ispitivanja bio je broj bolesnika sa HBI kod kojih je hronična hemodijaliza terapija izbora (godišnje se na Klinici za nefrologiju i kliničku imunologiju KCV indikuje kreiranje oko 80 AVF za hemodijalizu), incidenca ranih komplikacija tokom sazrevanja AVF i manjak istraživanja koja su se do sada u našoj populaciji bavila procenom efikasnosti antitromboznih lekova u prevenciji razvoja tromboze kao najzastupljenijeg patološkog substrata primarnog poremećaja njene protočnosti/afunkcionalnosti.

Istraživanje je obuhatilo ukupno 121 ispitanika, kojima je uzorak krvi za ispitivanje vađen pre kreiranja arteriovenske fistule. Kako je istraživanje kao osnovni cilj imalo procenu efikasnosti antitromboznih lekova u prevenciji rane tromboze/afunkcionalnosti AVF za hemodijalizu za vreme njene maturacije unutar 6 nedelja od njenog kreiranja, ispitanici su nakon kreiranja radiocefalične (89/121), intermedijalne podlaktatne (4/121) ili proksimalne podlaktatne (28/121) AAVF, podeljeni u 3 grupe. U prvoj kontrolnoj grupi je bilo 40 ispitanika koji nakon kreiranja AVF nisu dobijali antitromboznu terapiju, u drugoj je kod 42 ispitanika dan nakon kreiranja AVF započela

primena antitrombocitnog leka iz grupe tienopiridina (Ticlodix® a 250 mg 2 x ½ tbl / 24h), dok je u trećoj kod 39 ispitanika dan nakon kreiranja AVF započeta primena s.c. niskomolekulskog heparina, parenteralnog antikoagulansa iz grupe nadroparin-kalcijuma (Fraxiparine® 2850 IJ / 0.3 ml / 24 h). Među 121 ispitanikom bilo je 41 žena i 80 muškarca. Najmlađi učesnik ispitivanja je imao 21, a najstariji 83 godina.

Svrstavanje bolesnika u terapijske grupe nije u potpunosti bilo sprovedeno metodom slučajnog izbora, jer je svrstavanje u grupu koja prima Fraxiparin zavisilo od činjenice da li postoji mogućnosti adekvatnog sprovođenja predviđenog profilaktičkog režima tokom posmatranog perioda nakon dehospitalizacije.

U odnosu na primenjen antitrombozni tretman, ispitanici su bili usklađeni po godinama života, polu, zastupljenosti etioloških faktora HBB, dužini trajanja HBB, prisustvu pridruženih DM i hipertenzije, pušenja i dužine pušačkog staža, vrednostima sistolnog i dijastolnog KP, vrednostima ITM i zastupljenosti gojaznih, uzimanja ACE inhibitora, statina i blokatora kalcijumovih kanala, prisustva ranijih tromboza (arterijskih, venskih i recidivantnih), starosti u vreme tromboze i pozitivne porodične anamneze, prisustva markera trombofilnog stanja, biohemijskih markera bubrežne funkcije, parametara metabolizma glukoze i lipida, parametara inflamacije, vrednosti hemostaznih parametara (osnovni parametara hemostaze, činilaca koagulacije, parametara endotelne i koagulacione aktivacije, agregabilnosti trombocita, pokazatelja aktivnosti fibrinoliznog sistema) i elemenata crvene krvne loze, čime je potvrđena homogenost ispitivanih grupa u odnosu na sve ispitivane parametre.

Veći broj osoba muškog pola (80/121, 66.1%) među ispitanicima u odnosu na osobe ženskog pola (41/121, 33.9%) u suštini je u skladu sa činjenicom da je među bolesnicima koji se leče hemodijalizom u našoj zemlji 60% muškaraca, kao i u zemljama obuhvaćenih registrom ERA-EDTA (European Renal Association – European Dialysis and

Transplant Association) (345). Polna struktura je takođe važna sa stanovišta uticaja pola na maturaciju AVF - stopa neuspešne maturacije veća je kod osoba ženskog pola, pri čemu na ovakav ishod značajan doprinos imaju ITM i anatomske karakteristike utočnog arterijskog i otočnog venskog krvnog suda (344, 346).

U našem istraživanju ispitanici su bili srednje životne dobi. Medijane godina života u grupama bolesnika koje su dobijale antitrombozne lekove su bile 61.5 (57.3-67.9) i 61 (56.1-66), a u kontrolnoj grupi 51 (51-61). Ovaj podatak ističemo s obzirom na činjenicu da starija životna dob (>65 godina) po nekim istraživanjima ima negativan doprinos na maturaciju i patentnost AVF (346, 347), dok su od strane drugih autora ovakvi nalazi osporavani (348).

Kumulativna zastupljenost DMT2 i hipertenzije (72/121; 59.5%) kao vodećih etioloških činilaca HBB u ispitivanoj grupi, je bila veća u poređenju sa zastupljenosti primarnih bolesti bubrega (glomerulonefritis, pijelonefritis, policistična bolest bubrega) (49/121; 40.5%), a veća je i u odnosu na zbirnu prevalencu najčešćih etioloških činilaca u našoj populaci, hipertenzije (24%) i DM (15%). Ovakva distribucija etioloških činilaca je rezultat zaokruženog dijagnostičkog postupka, odsustva endemske nefropatije i tzv. drugih i nepoznatih etioloških činilaca HBB među našim ispitanicima. Uz DMT2 kao etilološki ili pridružen faktor HBB, detektovane su i vrednosti glukoze i HbA1c, koje su ukazale na dobru regulisanost bolesti u ispitivanim grupama. Među relevantim studijama koje su ispitivale uticaj DM na sazrevanje i funkcionalnost AVF takođe su prisutni kontradiktorni rezultati, kako o manjoj stopi patentnosti novokreiranih AVF kod dijabetičara (349), tako i o izostanku uticaja DM na njenu maturaciju i pored signifikantnog delovanja na razvoj medijalne fibroze (350). Za razliku od hipertenzije, negativan uticaj hipotenzije na neuspeh maturacije i smanjenu funkcionalnost AVF je mnogo značajniji (351, 352).

Medijana vrednost ITM ukazuje da su ispitanici u našem istraživanju bili normalno uhranjeni ili na donjoj granici gojaznosti. Prema literanim podacima, ITM ne utiče na maturaciju AVF, a učestalije komplikacije kod bolesnika sa većom TM odnose se na period eksploatacije vaskularnog pristupa (353).

Podaci o uzimanju lekova koji mogu imati uticaja na maturaciju AVF (inhibitori ACE, statini i blokatori kalcijumovih kanala), su značajni u smislu ravnomerno raspoređene učestalosti njihove upotrebe po grupama, što eliminiše mogući doprinosni uticaj na rezultat našeg istraživanja.

Pomenuti lekovi se i inače koriste za lečenje hipertenzije i dislipoproteinemije kod HBB, a u kliničkim ispitivanjima se ističe njihov uticaj na patentnost vaskularnog pristupa za hemodijalizu zbog inhibitornog učinka na razvoj VNH.

Delovanje inhibitora ACE u prevenciji tromboze vaskularnog pristupa se objašnjava uticajem angiotenzina II na proliferaciju GMC, a retrospektivne studije su pokazale ili signifikantan ili nizak učinak na rizik od tromboze ili patentnost AVF. Druga, prospektivna istraživanja su pokazala da je tretman sa inhibitorima ACE bio je udružen sa poboljšanjem stope sekundarne patentnosti AVF (354, 355).

Blokatori kalcijumovih kanala se takođe ističu kao lekovi koji doprinose patentnosti AVF u velikim restrospektivnim ispitivanjima (356).

Statini pored smanjenja nivoa lipida, imaju plejomorfni učinak, smanjuju nivo fibrinogena, inhibišu formiranje neointime i proliferaciju i invaziju GMC u krvnim sudovima (snižavanjem MMP-9) i ispoljavajući antioksidantno dejstvo, dok su u dijabetičara pored snižavanja holesterola pokazali i antiinflamatorno dejstvo (smanjuju koncentraciju CRP). Kod bolesnika sa PAOB poboljšavaju funkciju bubrega. Kao i u slučaju prethodnih lekova, uticaj statina na patentnost AVF i pored pozitivnih rezultata, još uvek nije potpuno potvrđena (357).

Ispitanici su između ostalog anketirani o ranijim venskim i/ili arterijskim trombozama, pozitivnoj porodičnoj anamnezi i štetnim navikama – pušenju u smislu detekcije faktora rizika za trombozu/afunkcionalnost AVF. Uticaj ovih činilaca na maturaciju AVF u stručnoj literaturi nije detaljno razrađen, iako je rizik za pojavu arterijskih i venskih tromboza u HBB višestruko povećan (358). Pošto tromboza predstavlja multifaktorijalni poremećaj nastao udruženim delovanjem urođenih i stečenih protrombogenih faktora u sadejstvu sa faktorima životne sredine, smatrali smo da bi pomenuti anamnestički podaci ispitanika mogli biti od koristi u našem ispitivanju u smislu eventualne dopune uzroka nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti AVF.

U cilju dopune uzroka nastanka rane tromboze/afunkcionalnosti arteriovenskih fistula za hemodijalizu i ispitivanja komponenti Virhovljeve trijade (promenjen sastav krvi, oštećenje zida krvnog suda i staza) zastupljene i u HBI kako osnove patofiziološkog mehanizma nastanka tromboze AVF, izvršena je procena biohemijskih pokazatelja bubrežne funkcije, parametara metabolizma glukoze i lipida, markera inflamacije (359) i ispitivanje nivoa biomarkera endotelne disfunkcije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema i markera trombofilije u bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom pre kreiranja AVF.

Zastupljenost biomarkera patološke endotelne aktivacije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema određena je na osnovu odstupanja izvan referentnog opsega.

Zastupljenost povišenih vrednosti vWFact i vWF Ag (kod 58.3% , odnosno 83.3 % ispitanika) reflektuje značajnu disfunkcije endotela i u skladu je sa udruženosti uremije sa povišenom koncentracijom VWF, jednog od konstituenata pretromboznog stanja u HBI (43).

Poremećaj broja trombocita je bio prisutan kod 6 ispitanika, kod 2 ispitanika (1.6%) ispoljen u vidu trombocitopenije (najniži broj trombocita iznosio je $74 \times 10^9/l$) dok je trombocitoza (najveći broj trombocita iznosio je $669 \times 10^9/l$) uočena kod njih 4 (3.3%). U našem ispitivanju nije zabeležen značajan poremećaj ukupnog broja trombocita kod bolesnika u HBI što govori u prilog suficijentne produkcije trombopetina (TPO) u jetri i bubrezima, očuvane megakariocitopoeze i kompenzovane periferne sekvestracije/potrošnje trombocita (360).

Međutim, ispitivanje funkcionalnosti trombocita ukazalo je na veću zastupljenost snižene funkcionalnosti trombocita uz induktore agregacije u ispitivanom uzorku. Agregabilnost trombocita je bila snižena (posebno uz TRAP, ASPI i/ili kolagen) kod više od 30% ispitanika, u odnosu na njihovu hiperreaktivnost koja je detektovana u 10% ispitanika TRAP testom, uz kolagen kao induktor u 15% i ASPI testom kod 18.5% ispitanika. Uz ADP je broj ispitanika sa povišenom i sniženom funkcionalnošću trombocita bio isti – 14.3%. Povišena agregabilnost trombocita je prisutna u okviru hipekoagulabilnog stanja u početnim stadijumima HBB i povezana je sa proinflamatornim stanjem, intrakcijom sa leukocitima i progenitorskim ćelijama, oksidativnim i metaboličkim stresom, dok je u terminalnom stadijumu bolesti češća zastupljenost njihove snižene reaktivnosti zbog oštećenja brojnih funkcija trombocita u uremičnom miljeu (361, 362).

Skraćeno aPTT koje može biti udruženo sa pojavom tromboze, prisutno kod 10.7% ispitanika je najverovatnije posledica stimulacije prokoagulantne trombinske aktivnosti zbog povišene koncentracije fibrinogena, FII, FVIII, FIX, FXI i FXII i vWF (363).

Prisustvo hiperfibrinogenemije kod 38 % ispitanika, povišena vrednost D dimera kod 85.7 % ispitanika i povišene vrednosti FII (22.5 % ispitanika), FVII (46 %), FX kod (35 %), FVIII (62.5 %), FIX (55 %), FXI (41 %) i FXII kod 10 % bolesnika, kao i

detektovane snižene vrednosti aktivatora plazminogena kod 82.5 % bolesnika i simbolično prisutne povišene vrednosti inhibitora plazmina kod 3.3% ispitanika, predstavljaju nalaz karakterističan za uznapredovale stadijume HBB i saglasan je sa nalazima drugih autora (364, 365).

Sa didaktičkog stanovišta o elementima Virhovljeve trijade u nastanku tromboze AVF, pored moguće staze krvi u samoj AVF koja nastaje zbog smanjenog laminarnog i oscilatornog »shear stress«-a, transmuralnog-cirkumferencijalnog pritiska, sniženog sistolno-dijastolnog KP zbog sistemskih i lokalnih razloga, smatramo vrednim pomena i radove autora koji su razmatrali doprinos samog vaskularnog akcesa prokoagulantnom stanju jer se na mestu kreirane arteriovenske anastomoze generišu lokalni činioci koji mogu potencirati već prisutnu sistemsku hiperkoagulabilnost (366). Naši nalazi su kompatibilni sa nalazima Erdema i sar. koji su potvrdili prisustvo markera protromboznog stanja u sistemskoj cirkulaciji kod HBB sa AVF, ali su takođe poređenjem koncentracije prokoagulantnih činilaca i inhibitora fibrinolize iz uzoraka krvi dobijenih iz AVF sa uzorcima venske krvi uzetim iz kontralateralne vene potvrdili signifikantno veće vrednosti indikatora prokoagulantne aktivnosti u uzorcima uzetim iz AVF uz zaključak da sama po sebi AVF može imati značajnu ulogu u modeliranju aktivnosti koagulacione i fibrinolizne kaskade (367).

Ispitivanjem zastupljenosti vrednosti biomarkera poremećene endotelne aktivacije, aktivacije trombocita, koagulacione i fibrinolizne komponente hemostaznog sistema uočen je značajan poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema koji se očituje u disfunkciji endotela, poremećenoj - u većini slučajeva sniženoj funkcionalnosti trombocita, prisustvu hiperkoagulabilnog stanja zbog hiperfibrinogenemije, povećane koncentracije pojedinih činilaca koagulacije, povišene trombinske i snižene fibrinolizne aktivnosti.

Između podgrupe ispitanika kod kojih je došlo do tromboze/afunkcionalnosti AVF 21/121 (17.35%) i podgrupe ispitanika sa funkcionalno maturiranom AVF 90/121 (82.64%), značajna statistička razlika ispitanih hemostaznih parametara je zabeležena u nižoj vrednosti agregabilnosti trombocita uz kolagen kao induktor (59.33 ± 33.1 vs. 75.04 ± 29.6 ; $P=0.033$) u podgrupi sa trombozom AVF u odnosu na podgrupu bolesnika sa funkcionalnom AVF, potom u većoj zastupljenosti ranijih tromboza (23/21 vs 19/100; $P=0.000$) i posebno većoj zastupljenosti venskih tromboza (9/21 vs. 2/100; $P=0.000$) u istoj podgrupi ispitanika sa trombozom AVF u odnosu na podgrupu bolesnika sa funkcionalno maturiranom AVF.

Uočljiv je rezultat snižene agregabilnost trombocita uz sve korišćene induktore u podgrupi ispitanika sa trombozom/afunkcionalnom AVF u odnosu na podgrupu sa funkcionalnom AVF, s tim da je statističku značajnost dostigla jedino niža vrednost agregabilnosti trombocita uz kolagen kao induktor u podgrupi sa trombozom/afunkcionalnom AVF u poređenju sa podgrupom u kojoj je AVF funkcionalna. Ovakav nalaz koji mehanicistički gledano nije nužno u skladu sa nepovoljnim kliničkom ishodom, potvrda je multikauzalnost i dinamičke progresije složenog patofiziološkog procesa koji određuje ishod maturacije AVF.

Sa druge strane statistički značano viša zastupljenost svih ranijih tromboza (i arterijskih i venskih) kao i zastupljenost samo venskih tromboza u istoj podgrupi ispitanika sa trombozom AVF u odnosu na podgrupu ispitanika sa funkcionalno maturiranom AVF treba prihvatiti kao značajne nepromenljive konstante koje prate i očigledno u našem istraživanju doprinose procesu neuspešne maturacije AVF tj. njenoj trombozi/afunkcionalnosti. Ovakvo stanovište je u skladu sa fundamentalnim postavkama o stečenim, naslednim i mešovitim faktorima rizika za vensku trombozu među kojima su ranije tromboze po značaju svog uticaja odmah iza godišta (starosti) ispitanika, a ispred

velikih hirurški intervencija, imobilizacije, fraktura, puerperijuma, paralize, dužeg boravka u postelji i upotrebe oralnih kontraceptiva (368). Pomenuti nalaz se može okarakterisati kao interesantan i sa teorijskog aspekta, imajući u vidu mesto nastanka tromba u AVF. Fistula predstavlja veštačku tvorevinu nastalu spajanjem arterijskog i venskog krvnog suda čije sazrevanje podrazumeva i tzv. »arterijalizaciju« konduita, odnosno »prilagođavanje« venskog segmenta fistule na krvni pritisak i povećen dotok krvi u rasponu karakterističnom za arterijsku cirkulaciju, pri čemu se VNH koja predstavlja adaptivni odgovor na hemodinamski stres arterijske cirkulacije (369), zbog vremena potrebnog za razvoj kritične okluzije (stenoza koja redukuje luminalni dijametar za 50%), ne može smatrati »conditio sine qua non« rane tromboze AVF.

Autori navode da je tromboza AVF arterijskog tipa, odnosno da je u pitanju trombocitni tromb (370), čiji se nastanak po analogiji sa patologijom koronarnih arterija, vezuje za ulceraciju i rupturu ateromatoznog plaka i izlaganju visokoreaktivnih subendotelnih struktura cirkulišućoj krvi. Pošto je u pitanju kompozitno mešoviti vaskularni karakter AVF, izgleda da presudnu ulogu u nastanku tromboze »arterijskog« tipa u AVF i bez prisustva ateromatoznog plaka ima inflamatorna aktivnost prisutna u venskom segmentu fistule [histološko-imunološka potvrda prisustva makrofaga, limfocita, adhezivnih molekula (VCAM, ICAM), citokina (IL-6, TNF_α), MMP-2, MMP-9 i neovaskulature u mediji i intimi]. Proteoliznim delovanjem matriksmetaloproteinaza oslobođenih iz makrofaga, koje mogu izazvati strukturnu destabilizaciju neointime i »pucanja« pratećeg endotelnog pokrivača, pokreće se stvaranja arterijskog tromba, pri čemu je i prisustvo neovaskulature (bez izražene VNH) dovoljan uslov za infiltraciju leukocita u zid novoformirane AVF u cilju smanjenja inflamacije i pojačanu sintezu MMP (371). Specifičnost mehanizma nastanka tromboze u AVF treba imati u vidu s obzirom da HBI objedinjuje potencijale za njen nastanak, sadržan u različitim predisponirajućim

faktorima rizika, složenom poremećaju metabolizma i inflamatornom stanju, a koji se kao zajednički imenitelj reflektuju i u našem ispitivanju kroz značajno veću zastupljenost ranijih tromboza (i arterijskih i venskih) kao i veću zastupljenost samo venskih tromboza u podgrupi ispitanika sa trombozom AVF.

U zastupljenosti trombofilnih markera, značajna statistička razlika je zabeležena između podgrupa bolesnika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF, u prisustvu deficita PC (3/21 vs. 3/100; $P=0.030$), izolovanoj APC-R (4/21 vs. 5/100; $P=0.026$), prisustvu antifosfolipidnih ACL IgM antitela (1/21 vs. 0/100; $P=0.028$), heterozigotnog polimorfizma FV G1691A 3/21 vs. 3/100; $P=0.03$) i homozigotne mutacije gena FII G20210A (1/21 vs. 0/100; $P=0.028$).

Zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti AVF u bolesnika sa udruženom trombofilijom je češća u odnosu na ispitanike koji su imali drugu vrstu ili uopšte nisu imali trombofiliju (6/18 vs. 15/103; $P=0.052$), ali koja nije dostigla statističku značajnost.

Posebno ispitivanje uticaja vrednosti PC na rizik od venske tromboze u HBB nisu sprovedena (47). Izolovana APC rezistencija bez genetske osnove bi mogla biti objašnjena povećanom koncentracijom FVIII prisutnim u našem istraživanju, kao i sniženjem koncentracije proteina S, dok podaci za teorijsku tvrdnju o eventualnom prisustvu inhibitora proteina C (PCI) i korelaciju sa pojavom stečene APC rezistencije u HBB nisu dostupni.

Zastupljenost heterozigota za FV Leiden u našem ispitivanju (6/121; 4.96%) ne odstupa od učestalosti ove mutacije među zdravima (4%-5.8%) u našoj zemlji. U našem ispitivanju se tromboza/afunkcionalnost AVF razvila kod jednog od četiri bolesnika sa izolovanim heterozigotnim polimorfizmom FV G1691A (tj. u 25%) što je više od učestalosti ove mutacije među bolesnicima sa trombozom (15.5%) u našoj populaciji, a što zbog veličine uzorka ne možemo smatrati relevantnim za poređenje (372).

Homozigotna mutacija gena za protrombin 20210 prisutna kod jednog ispitanika u našem istraživanju (1/121; 0.82%) je bila udružena sa deficitom PS i LA. Ovakva forma kombinovane trombofilije bila je udružena sa trombozom/afunkcionalnošću AVF. Pojedini autori su pronašli značajno veću zastupljenost heterozigotne protrombin G20210A mutacije u grupi sa trombozom AVF u poređenju sa kontrolnom (244), dok se u drugim istraživanjima prisustvo iste mutacije nije značajno razlikovalo između ispitivanih podgrupa (373).

U situacijama kada se tromboza AVF razvija nezavisno od vidljivog anatomskog razloga, posebno kod osoba mlađih od 40 godina, trombofiliju treba isključiti kao moguć razlog (374).

Na osnovu iznetih rezultata, činioci koji bi mogli imati doprinosnu ulogu na razvoj tromboze/afunkcionalnosti AVF su endotelna disfunkcija i hiperkoagulabilno stanje manifestovano kao povišena koncentraciji pojedinih faktora koagulacije, povišena trombinska aktivnost, snižen nivo prirodnog inhibitora PC, izolovana rezistencija na APC, izolovano prisustvo antifosfolipdnog antitela ACL IgM, polimorfizam FV G1691A i FII G2021A, kao i snižena fibrinolizna aktivnost, čiji se pojedinačni ili zajednički finalni učinak može svesti na pojačanu generaciju trombina, koji pored stimulativnog kompleksnog delovanja u okviru hemostaznog sistema, izaziva proliferaciju i migraciju GMĆ uz indukciju sinteze PDGF i MCP-1, čime se stvara osnova i za trombozu i za VNH u AVF (375).

U vrednostima svih drugih ispitivanih parametara između podgrupa bolesnika sa tromboziranom/afunkcionalnom i funkcionalnom AVF, statistički značajne razlike nisu dobijene ($P > 0.05$, za sve).

Trombofilija je bila prisutna u 59/121 (48.8%) ispitanika, što je u skladu i sa nalazima drugih autora koji su zabeležili prisustvo najmanje jednog trombofilnog markera u oko 50 % bolesnika u završnom stadijumu HBB (207).

U odnosu na markere aktivacije koagulacione komponente hemostaznog sistema i inflamatorne pokazatelje u grupi ispitanika sa trombofilijom snižena koncentracija FVIII se statistički značajno razlikovala u odnosu na vrednosti FVIII u grupi ispitanika bez trombofilije (170.35 ± 103.97 vs. 235.26 ± 124.80 ; $P=0.02$). Vrednost odnosa trombociti/limfociti (181 ± 64.58 vs. 148.11 ± 66.15 ; $P=0.026$) u grupi ispitanika sa trombofilijom je bila statistički značajno veća u odnosu na grupu ispitanika bez trombofilije. Ostali parametri hemostaznog sistema između ove dve podgrupe ispitanika nisu dostigle statistički značajnu razliku, mada su u podgrupi ispitanika sa trombofilijom medijana ili srednje vrednosti broja trombocita, koncentracije fibrinogena, nivoa vWF Act i vWF Ag, D dimera, aktivatora i inhibitora plazminogena i agregabilnost trombocita (uz sve ispitivane agoniste) bili veći u odnosu na vrednosti ispitanih parametara u podgrupi ispitanika koji nisu imali trombofiliju.

Opisani nalaz koji odstupa od često povećane koncentracije FVIII kod osoba sa trombofilijom uz statistički značajno veće vrednosti odnosa trombociti/limfociti u istoj grupi mogao bi se objasniti pretpostavkom da je u momentu uzimanja uzoraka krvi za naše ispitivanje, u grupi ispitanika sa trombofilijom na vrednost pojedinih parametara hemostaznog sistema i pokazatelja prokoagulantne aktivacije, bio prisutan mnogo veći uticaj aktuelnog kliničkog stanja bolesnika, oštećenja endotela i inflamacije nego prisustvo trombofilije. Ovakva pretpostavka može biti potkrepljena nalazom statistički značajno veće vrednosti odnosa trombociti/limfociti u podgrupi ispitanika sa trombofilijom u odnosu na podgrupu bolesnika bez trombofilije, a koji slično kao i odnos neutrofili/limfociti pozitivno korelira sa jačim zapaljenskim procesom, inflamatornim markerima i citokinima prisutnim

u HBI (CRP, IL-6, TNF α). Potvrđena udruženost PLR sa mortalitetom u akutnom IM značajna je i zbog visoke zastupljenosti ateroskleroze i KVB u HBB. Opravdanost prihvatanja PLR kao objedinjenog markera inflamacije i ateroskleroze oslanja se na značajnu ulogu trombociti u oba procesa - sekrecijom proinflamatornih markera i njihovim vezivanjem za endotel stimuliše se migracija i adhezija leukocita, posebno u uslovima povišenog »shear stressa« (pristunog i u novokreiranoj AVF) (376).

Ni ukupna zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih AVF (11/59 vs. 10/62; P=0.715), niti ukupna zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF (8/59 vs. 9/62; P=0.879), kao ni ukupna zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih proksimalnih AVF (3/59 vs. 1/62; P=0.293) u podgrupama ispitanika sa i bez trombofilije se nije statistički značajno razlikovala.

Od 59 ispitanika koji su imali trombofiliju tromboza/afunkcionalnost AVF bila je najčešće prisutna kod ispitanika sa izolovanom APC-R (1/2; 50%), udruženom trombofilijom (6/18; 33.3%) i izolovanim heterozigotnim polimorfizmom FV G1691A (1/4; 25%), dok je kod ostalih vrsta trombofilije daleko manja: APS (2/21; 9.5%), izolovani defecir AT (1/8; 12.5%). Iako je zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti AVF u bolesnika sa udruženom trombofilijom češća u odnosu na ispitanike koji su imali drugu vrstu ili uopšte nisu imali trombofiliju (6/18 vs. 15/103; P=0.052), ona nije dostigla statistički značajnu vrednost.

Ovakva distribucija tromboza/afunkcionalnost AVF, analogno činjenici da se tromboza u opštoj populaciji ne ispoljava kod svih nosilaca nasledne, stečene ili udružene trombofilije, sugerise da trombofilija nije jedini i obavezan preduslov za nastanak tromboze fistule kao i da za njeno kliničko ispoljavanje nije dovoljan samo jedan faktor, već sadejstvo »sekundarnog« faktora rizika, što govori u prilog shvatanja da je etiopatogeneza tromboze/afunkcionalnosti AVF multifaktorijalna (202).

Većina istraživanja prisustva trombofilije, antifosfolipidnog sindroma i hiperhomocisteinemije u HBI se odnosi na njihov uticaj na patentnost AVF tokom već započete dijalize, sa niskim stepenom konkluzivnosti (377, 378, 379, 380). Salmela i sar. navode da su ženski pol (HR 2.6) i trombofilija (HR 2.2; 95% CI 1.2-4.2) nezavisni rizikofaktori za gubitak primerne patentnosti AVF i zaključuju da trombofilija (i ženski pol) predisponiraju afunkcionalnost vaskularnog pristupa najčešće zbog njegove tromboze ili stenoze (381).

U našem radu tromboza/afunkcionalnost AVF tokom njene maturacije je ustanovljena kod 21/121 (17.4%) ispitanika. Od 21 tromboziranih/afunkcionalnih AVF, bilo je 17 (81%) distalnih i 4 (19%) proksimalnih AVF.

Zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih AVF za vreme njenog sazrevanja u ispitivanim grupama (12/40 vs. 4/42 vs. 5/39; $P=0.033$) se statistički značajno razlikovala. U kontrolnoj Grupi I bez terapije bilo ih je 12 (30%), u Grupi II koja je primala Ticlodixtbl njih 4 (9.5%), a u Grupi III koja je primala antikoagulantnu terapiju 5 ispitanika (13%).

Takođe je u zastupljenosti tromboziranih/afunkcionalnih i funkcionalnih AVF tokom sazrevanja u kontrolnoj grupi (Grupa I) i objedinjenim grupama (Grupa II i Grupa III) koje su primale antitrombozne lekove (12/40 vs. 9/81; $P=0.009$) zabeležena značajna statistička razlika.

Rezultatom je potvrđeno da profilaktička primena antitromboznih lekova (tiklopidina i nadroparin-kalcijuma) smanjuje učestalost pojave rane tromboze i pojavu primarne nefunkcionalnosti AVF za hemodijalizu tokom njene maturacije.

Daljom analizom ispitivanih grupa, utvrđena je statistički značajna razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih AV fistula između grupe ispitanika koji su primali antitrombocitnu terapiju i kontrolne grupe ispitanika ($P=0.019$). Zbog malog broja ispitanika u ispitivanim grupama, a u cilju procene značajnosti dobijenih rezultata Hi

kvadrat testom, urađen je koeficijent Cramer's V, čija je vrednost (0.25) ukazala na veoma slabu snagu statističkog testa. Daljom analizom, Fisher-ovim testom, za male uzorke potvrđeno je postojanje statističke značajnosti u broju tromboza između kontrolne grupe i grupe ispitanika koja je primala antitrombocitnu terapiju ($P=0.026$).

Testiranjem razlike u broju tromboziranih/afunkcionalnih AVF između ispitanika kontrolne grupe i grupe ispitanika na antikoagulatnoj terapiji nije dobijena statistički značajna razlika ni Hi kvadrat testom ($P=0.063$) niti Fisher-ovim testom (0.099).

S obzirom da ni jednim od primenjenih testova nije utvrđeno prisustvo statistički značajne razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih fistula između dve grupe kod kojih je primenjivan antitrombocitni ili antikoagulantni lek [Hi kvadrat test ($P= 0.637$), Fisher-ov test ($P=0.09$)], postojanje razlike u efikasnosti dve primenjena antitrombozna režima, odnosno superiornost antikoagulantne terapije u poređenju sa antitrombocitnom nije utvrđena.

Odvojenom analizom zastupljenosti broja tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF za vreme njihove maturacije između ispitivanih grupa (12/34 vs 2/31 vs. 3/24; $P=0.005$) zabeleženo je prisustvo značajne statističke razlike. U kontrolnoj Grupi I koja nije primala terapiju kod 12 (35%) ispitanika je ustanovljena tromboza/ afunkcionalnost distalne AVF, u Grupi II koja je primala antitrombocitnu terapiju tromboza/afunkcionalnost distalne AVF je ustanovljena kod njih 2 (6.5%), a u Grupi III koja je primala antikoagulantnu terapiju tromboza/ afunkcionalnost distalne AVF je ustanovljena kod 3 (12.5%) ispitanika.

Jednako kao i kod svih ispitanika tako je efikasnost antitromboznih lekova (tiklopidina i nadroparin-kalcijuma) u profilaktičkom režimu njihove primene potvrđena i smanjenjem učestalosti pojave rane tromboze i primarne nefunkcionalnosti distalne AVF za hemodijalizu tokom njene maturacije.

Dodatnom analizom ispitivanih grupa, utvrđena je statistički značajna razlika u broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AV fistula između kontrolne grupe ispitanika i grupe ispitanika koji su primali antitrombocitnu terapiju ($P=0.005$). I ovde je zbog malog broja ispitanika u ispitivanim grupama, a u cilju procene značajnosti dobijenih rezultata Hi kvadrat testom, urađen koeficijent Cramer's V, čija je vrednost (0.35) takođe ukazala na veoma slabu snagu statističkog testa. Fisher-ovim testom, za male uzorke potvrđeno je postojanje statističke značajnosti u broju tromboza/ afunkcionalnosti distalnih AVF između kontrolne grupe i grupe ispitanika koja je primala antitrombocitnu terapiju ($P=0.006$).

Testiranjem statističke razlike u broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF između ispitanika kontrolne grupe i grupe ispitanika na antikoagulatnoj terapiji nije dobijena statistički značajna razlika ($P=0.051$), kao ni između grupa ispitanika koje su primale antitrombocitnu, odnosno antikoagulantnu terapije ($P=0.439$). Fisher-ovim testom, potvrđen je izostanak statističke značajnosti u broju tromboziranih/ afunkcionalnih distalnih AVF između Grupe I i Grupe III ($P=0.070$), kao i između Grupe II i Grupe III ($P=0.643$). Na taj način je i u grupi distalnih AVF potvrđeno odsustvo superiornosti antikoagulantne terapije u odnosu na antitrombocitnu tj. izostanak razlike u efikasnosti dva primenjena antitrombozna režima.

Primarni poremećaj protočne funkcije definisan u našem istraživanju kao tromboza/afunkcionalnost AVF prisutan u 17.4% ispitanika niži je u odnosu na stopu primarnog poremećaja funkcije AVF (28-53%) koja se često navodi u literaturi (339). Meta analiza koja je obuhvatila 37 istraživanja (7.393 fistula) objavljena od strane Al-Jaishi-ja i sar. navodi stopu primarnog poremećaja protočne funkcije od 23 % uključujući sve tipove fistula (382, 383). Posmatrajući zastupljenost tromboziranih/afunkcionalnih AVF u ispitivanim grupama, stopa primarnog poremećaja protočne funkcije AVF u kontrolnoj grupi od 30% je takođe u skladu i sa iskustvima drugih autora (384, 250). Odvojena

zastupljenost tromboza/afunkcionalnosti distalnih radiocefaličnih AVF tokom maturacije (35.3%) u kontrolnoj grupi je nešto veća, mada se nešto niži objavljeni komparativni rezultati odnose isključivo na zastupljenost tromboza kao razloga primarne disfunkcije AVF nedefinisane lokalizacije (370, 325). U poređenju sa istraživanjima gde su uzroci primarnog poremećaja protočne funkcije radiocefalične AVF razgraničeni kao njeno nesazrevanje (33%) i tromboza (7%), zastupljenost »objedinjeno definisanog« razloga ispada funkcionalnosti distalnih AVF tokom maturacije (kao tromboza/afunkcionalnost) u našem ispitivanju (35%) je niža (385). Kompletna maturacija distalne radiocefalične AVF zabeležena je kod 72/89 (87%), što je više u odnosu na rezultate poslednje prospektivne studije (76%) sprovedene u KCV (344), a čemu je očigledno doprinela primena trombopofilakse.

Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na maturaciju AVF u celoj grupi, zapazili smo da su ispitanici koji su primali antitromboznu terapiju imali 3 puta veću šansu za funkcionalno maturiranu AVF [OR 3.45 (1.3-9.03)] u odnosu na bolesnike bez terapije.

Ispitanici koji su imali prethodne tromboze su imali višestruko povišen rizik [OR 6.92 (2.51-19.06)] za nastanak tromboze AVF tokom maturacije.

Ispitivanjem prediktivnog potencijala ostalih kliničko-laboratorijskih faktora rizika, etiologije HBB (primarnih bolesti bubrega, DMT2, hipertenzije), pridruženih DM i hipertenzije, aterosklerotskih KVB, trombofilije, pola, godina života, dužine trajanja bolesti, gojaznosti i pušenja nije zabeležen njihov statistički značajan uticaj na rizik od razvoja tromboze/afunkcionalnosti AVF.

Odvojenom analizom ispitanika sa trombozom/afunkcionalnošću distalne AVF izdvojena su 3 statistički značajna faktora rizika: odsustvo trombopofilakse, prethodna aterosklerotske KVB i ranje tromboze.

Prilikom ispitivanja uticaja pojedinačnih parametara na rizik od pojave tromboze/afunkcionalnosti distalne AVF, zapažamo da primena antitrombozne terapije [OR 5.4 (CI 1.7 - 17.35)] petostruko snižava rizik za nastanak tromboze/afunkcionalnosti distalne AVF, odnosno da primena antitrombozne terapije petostruko povećava šansu za adekvatnu maturaciju distalne AVF.

Ispitanici koji su imali aterosklerotske KVB [OR 0.32 (0.1-0.98)] ili ranije tromboze [OR 0.14 (0.04-0.44)] su za 68% ili 86% imali manju verovatnoću za adekvatnu maturaciju distalne AVF .

Ostali parametri (etiologija HBB, pridruženi DM, hipertenzija, trombofilija, pol, godine života, dužina trajanja bolesti, gojaznost i pušenje) nemaju statistički značajan uticaj na rizik za nastanak tromboze/afunkcionalnosti AVF.

U grupi bolesnika sa trombofilijom (59/121 ; 48.8%) nije zabeleženo prisustvo statistički značajne razlike u efikasnosti primenjenih antitromboznih režima merene učestalošću tromboza/afunkcionalnosti AVF u odnosu na bolesnike sa trombofilijom koji nisu primali antitromboznu terapiju (5/19 vs. 2/18 vs. 4/22; P=0.493). Takođe kod ispitanika sa trombofilijom nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti primene antitromboznih lekova mereno učestalošću tromboza/afunkcionalnih distalnih AVF u odnosu na ispitanike sa trombofilijom, ali koji nisu primali antitrombozne lekove (7/21 vs. 1/24 vs. 1/17; P=0.136). Statistički značajna razlika u efikasnosti primene antitromboznih lekova između grupa ispitanika sa trombofilijom merene učestalošću tromboza/afunkcionalnosti proksimalnih AVF u odnosu na ispitanike sa trombofilijom koji nisu primali antitromboznu profilaksu takođe nije utvrđena (0/19 vs. 1/18 vs. 2/22; P=0.415).

Na osnovu ovakvog rezultata možemo zaključiti da ni jedan konkretni antitrombocitni ili antikoagulantni lek primenjen u našem istraživanju u navedenim dozama

nije imao uticaj na smanjenje zastupljenosti tromboze/afunkcionalnosti bilo kog tipa AVF u podgrupi bolesnika koji su imali trombofiliju.

U grupi ispitanika bez trombofilije (62/121; 51.2%) utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u učestalosti tromboza/afunkcionalnosti AVF između grupe sa i bez primene antitromboznih lekova, kako u ukupnom broju tromboziranih/afunkcionalnih AVF (7/21 vs. 2/24 vs. 1/17; $P=0.030$), tako i u ukupnom broju tromboziranih/afunkcionalnih distalnih AVF (7/21 vs. 1/24 vs. 1/17; $P=0.010$). Takođe nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti primene antitromboznih lekova merene učestalošću tromboza/afunkcionalnih proksimalnih AVF u odnosu na ispitanike bez trombofilije koji nisu primali antitrombozne lekove (1/21 vs. 0/24 vs. 0/17; $P=0.370$). U podgrupi bolesnika bez trombofilije takođe nije bilo statistički značajne razlike u efikasnosti primene antitromboznih lekova merene učestalošću tromboza/afunkcionalnosti proksimalnih AVF u odnosu na ispitanike koji nisu primali antitrombozne lekove (1/21 vs. 0/24 vs. 0/17; $P=0.370$).

Ovakav rezultat nameće zaključak da su Ticlodix i s.c. Fraxiparin primenjeni u profilaktičkim dozama smanjili učestalost tromboza/afunkcionalnosti AVF u podgrupi ispitanika bez trombofilije prvenstveno zbog dominantno zastupljenog smanjenja učestalosti tromboza/afunkcionalnosti distalnih AVF, dok je pozitivan učinak na smanjenje učestalosti tromboza/afunkcionalnosti proksimalnih AVF u istoj podgrupi ispitanika izostao.

Primenjeni antitrombozni režim (antitrombocitna ili antikoagulatna terapija) u podgrupi ispitanika koji nisu imali trombofiliju značajno je doprineo manjoj zastupljenosti tromboza/afunkcionalnosti AVF i manjoj zastupljenosti tromboza/afunkcionalnosti i distalnih i proksimalnih AVF.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da je učinak antitrombozne terapije na prevenciju nastanka tromboze/afunkcionalnosti AVF tokom njene maturacije značajan, kao i da primena antitrombocitne (Ticlodix tbl u profilaktičkim dozama 250 mg/24 h) ili antikoagulantne terapije (s.c. Fraxiparina 0.3 ml/2850 anti Xa i.j. dnevno) značajno smanjuje rizik od trombozu/afunkcionalnost AVF tokom njenog sazrevanja.

Primena dva različita profilaktička režima je pokazala podjednaku efikasnost odnosno nije utvrđena prednost primene antikoagulantnog leka, što bi se moglo objasniti podjednako značajnom ulogom koagulacionog sistema i trombocitne komponente hemostaze u nastanku rane tromboze AVF.

Uzimajući u obzir da je u našem radu funkcionalnost AVF bila kriterijum za njenu uspešnu maturaciju (započinjanje efiksne hemodijalize), može se takođe zaključiti da je primena antitrombozne terapije (antitrombocitne ili antikogulantne) doprinela i uspešnoj maturaciji AVF.

Ovakav učinak antitrombozne terapije je u saglasnosti sa drugim istraživanjima, posebno kada je u pitanju učinak tiklopidina. Za razliku od ispitivanja koja su koristila dozu tiklopidina od 250 mg dva puta dnevno u prevenciji novokreirane AVF (386), mi smo koristili dozu od 250 mg dnevno podeljenu u dve jednake doze s obzirom da profili naših bolesnika kod kojih se planira kreiranje AVF podrazumeva često niske vrednosti JGF i potrebu plasiranja dvolumenskog katetera za inicijalnu hemodijalizu i pre sazrevanja AVF. Takođe smo uzeli u obzir i socijano-ekonomski položaj većine naših ispitanika i činjenicu da je Pravilnik o listi lekova koji se propisuju i izdaju na teret sredstava obaveznog zdravstvenog osiguranja (donet na sednici UO RFZZO, 7. jula 2015. godine) uvrstio Ticlodix tbl na Listu lekova koji se propisuju i izdaju na teret sredstava obaveznog zdravstvenog osiguranja (Lista A, obuhvaćeni lekovi koji se propisuju i izdaju na obrascu lekarskog recepta), imajući u vidu potrebu korišćenja Ticlodix tbl i nakon otpusta sa

bolničkog lečenja. U ispitivanjima Fiskerstranda i sar. (Brescia-Cimino AVF) i Grontofta i sar., tiklopidin primenjen tokom 4 nedelje nakon hirurškog kreiranja AVF je smanjio rani poremećaj njene funkcije sa 30% (placebo grupa) na 10% (387, 388), dok je kasnije istraživanje Grontofta i sar. (370) potvrdilo povoljan učinak tiklopidina (sa početkom primene 7 dana preoperativno i 28 dana postoperativno) na sprečavanje nastanka tromboze novokreiranih AVF, ali 34% smanjenje rizika za trombozu za sve kreirane fistule (različite lokalizacije) nije dostiglo statističku značajnost. Naši rezultati su u skladu i sa radovima Ghorbanija i sar. (384) i statistički značajno smanjenom stopom (29% vs. 6.45%) primarne afunkcionalnosti AVF nakon primene 250 mg tiklopidina dva puta dnevno (započete 7-10 dana preoperativno i tokom 8 nedelja postoperativno), koji je između ostalog zaključio da lokalizacija AVF nije imala uticaj na afunkcionalnost AVF ni u jednoj grupi.

Pored inhibicije primarne i sekundarne faze agregabilnosti trombocita indukovane ADP-om uz maksimalno dejstvo 5-7 dana nakon početka primene, tiklopidin smanjuje oslobađanje sadržaja α granula – β tromboglobulina (potentni mitogen, hemoatraktant za fibroblaste i neutrofile i stimulator sinteze aktivatora plazminogena u fibroblastima) i PDGF (potentni mitogen fibroblasta i GMC, stimulator ćelijske proliferacije, migracije i angiogeneze), koji su posebno važni u stimulaciji stvarnja i depoziciji ekstracelularnog matriksa. Pojačana sinteza stimulatora rasta (PDGF, bFGF-trombocitnog bazičnog fibroblasnog faktora rasta i angiotenzina) u odnosu na inhibitore rasta (NO i heparin sulfat) remeti fiziološku ravnotežu i stvara uslove u prisustvu inflamacija i oksidativnog stresa i za razvoj neointimalne hiperplazije i za razvoj tromboze (rupturom ili destabilizacijom intime AVF) (389, 390). Protraževano delovanje lekova iz grupe tienopiridina zasnovano je na modifikaciji i megakariocitnih ADP receptora, što prevenira dalje vezivanje ADP za trombocite koji bivaju oslobođeni u cirkulaciju (391).

Za primenu s.c. Fraxiparina (koji se nalazi na Listi B Pravilnika o listi lekova koji se propisuju i izdaju na teret sredstava obaveznog zdravstvenog osiguranja) smo se odlučili zbog toga što je u KCV Fraxiparin najčešće korišćen niskomolekularni heparin za sprovođenje parenteralne tromboprofilakse. Njegov antikoagulantni učinak se ostvaruje inhibicijom FXa posredstvom vezivanja za AT, a predlog za ispitivanje uticaja niskomolekularnog heparina u prevenciji vaskularnog pristupa prvi su izneli Hakim i Himmelfarb 1998. godine (392). Iako u raspoloživoj literaturi nema podataka o bioakumulaciji nadroparina u bolesnika sa insuficijencijom bubrega kao i činjenica da je akumulacija zavisna od molekulske mase, a da korišćenje enoxaparina [MM 4.2 (3.5-5.5) kDa] koji ima indentičnu MM sa nadropariunom (4.5 kDa) u profilaktičkim dozama nije dovelo do bioakumulacije kod bolesnika sa CrCl < 30 ml/min, kao i našim pozitivnim kliničkim iskustivima u vezi korišćenja s.c. Fraxiparina u HBB, su bili dodatni razlozi njegove primene u našem ispitivanju (393). Pozitivan učinak Fraxiparina u našem ispitivanju bi se pored direktnog antikoagulantnog mogao objasniti i njegovim mogućim antiproliferativnim delovanjem, jer je s.c. primena LMWH smanjivala incidencu intimalne hipreplazije u animalnim modelima, a višemesečna upotreba LMWH kod pacijenata sa rekurentnom trombozom vaskularnog akcesa povećala je patentnost vaskularnog grafta ali je bila udružena i sa značajnim rizikom od krvarenja (394). Ispitivanje učinka protokola primarne tromboprofilakse koji je obuhvatao infuziju UFH (5-10 U/kg na 1 sat) odmah nakon kreacije AVF, a potom s.c. LMWH do njene maturacije u hemodijaliziranih u pedijatrijskoj populaciji rezultirala je značajnim smanjenjem stope tromboza AVF u poređenju sa kontrolnom grupom (395). U istraživanju Yogija i sar. 2012. godine posmatrao se učinak UFH (sc 2500 ij) datog intraoperativno odmah nakon završetka anastomoze i postoperativna administracija LMWH u jednoj ili dve doze u zavisnosti od veličine anastomozirane vene radijalnih fistula tokom 2-3 dana, nakon čega je nastavljano

klopidogrelom ili varfarinom 1-2 nedelje, naročito ako u slučaju radijalne lokacije AVF tril nije bio upadljiv. Nakon praćenja koje je vršeno svaka 3 meseca tokom prve godine, a potom na 6 meseci najmanje dve godine za svaku kreiranu AVF zaključeno je da razumna upotreba antitrombocitnih/antikoagulantnih lekova u bolesnika sa AVF može biti korisna u prevenciji njene okluzije i od pomoći u dugotrajnosti njene upotrebe (patentnosti) bez signifikantnog riika od krvarenja (396). Efikasnost LMWH (u dozi od 4.100 i.j. uz 50 mg dipiridamola tokom 7 postoperativnih dana) na prevenciju rane tromboze AVF i sigurnost njegove upotrebe takođe su povrdili Xsing i sar (397).

Pored pomenutih mehanizama delovanja heparina, eksperimentalna i klinička istraživanja su potvrdila da je pored antikoagulantne, prisutna i odvojena antiinflamatorna aktivnost heparina koja se ostvaruje različitim mehanizmima neutralizacije katjonskih medijatora, inhibicijom adhezivnih molekula i heparinaze i kontrolom nakupljanja leukocita u tkivima, s tim da je potencijal ispoljavanja različitih dejstava uslovljen i molekulskom masom heparina (398).

Prva upotreba antikoagulantnog leka (varfarina) u prevenciji tromboze Skribnerovog šanta za hemodijalizu objavljena je 1967. godine pri čemu je »upotreba varfarina smanjila frekvencu zgrušavanja u grupi bolesnika koja je dobijala« (399). Od tada su sprovedena brojna ispitivanja u vezi sa korišćenjem različitih farmaka-antitrombocitnih ili antikoagulantnih lekova u cilju smanjenja tromboze i poboljšavanja rane i kasne patentnosti hemodijaliznog akcesa, bilo da su u pitanju AVF ili AVG.

Prvi sistematski prikaz o korišćenju adjuvantne (»pomoćne«) terapije u cilju povećanja patentnosti AVF i AVG objavljen je 2003. godine od strane Da Silve i sar. Meta analizi je obuhvatila randomizirana kontrolisana istraživanja uticaja različitih antitrombocitnih lekova vs. placebo: aspirina u različitim dozama (3 studije; dve koje se odnose na AVG korišćene doze aspirina od 500 mg i 325 mg, dok je u trećoj koja se

odnosi na AVF doza aspirina bila 160 mg), tiklopidina (tri istraživanja, ukupno 312 ispitanika, koja su koristila istu dozu od 250 mg tiklopidina dva puta dnevno) i dipiridamola (dipiridamol vs. placebo; dipiridamol vs. aspirin; dipiridamol vs. dipiridamol + aspirin) na vreme trajanja patentnosti AVF, AVG i Scribnerovog šanta kod bolesnika na hemodijalizi tokom različite dužine korišćenja lekova (do 18 meseci). U zaključku autori navodi da su meta analize potvrdile povoljan učinak antitrombotične terapije u povećanju patentnosti AVF i šantova tokom kratkog perioda (400).

Meta analiza Polkinghorna objavljena 2008. godine obuhvatila je 10 randomiziranih kontrolisanih studija sa 929 bolesnika (pretraga Medline baze podataka od 1966. do treće nedelje jula 2006. godine), od koji je u 7 razmatran učinak antitrombotičnih lekova, i u po jednom - niskih doza varfarina (ciljni INR 1.4-1.9), ribljeg ulja i sulfipirazona na prevenciju tromboze vaskularnog akcesa (AVF i AVG). Na osnovu četiri istraživanja koja se odnose na primarnu funkcionalnost AVF i praćenje ishoda tokom jednog meseca korišćenja leka nakon kreiranja AVF [3 male randomizirane studije koje su koristile aspirin u dozi od 500 mg (Andrassy K. et al. 1974) i dve koje su koristile tiklopidin a 250 mg 2 x 1 tbl/dnevno (Fiskerstrand CE, et al.1985; Grontoft KC, et al. 1985)], autor iznosi smernice da tretman antitrombotičnim lekovima (aspirin, klopidogrel ili tiklopidin) može smanjiti incidencu primarne (rane) nefunkcionalnosti AVF u prvom mesecu njenog kreiranja [navodeći takođe da ispitivanja efikasnosti tiklopidina na većem broju ispitanika (Grontoft KC, et al. 1998) nisu potvrdila taj učinak i činjenicu da pregledni članak Da Silve i sar. iz 2003. godine sugerise pozitivan učinak tiklopidina iako je bezbednost upotrebe leka upitna, dok je istraživanje Dembera i sar. o uticaju klopidogrela na ranu trombozu AVF posmatrao samo u delu koji se odnosi na maturaciju AVF unutra 6 nedelja, bez iznošenja podataka o visokom procentu nefunkcionalnosti merene

neadekvatnošću AVF za suficijentno sprovođenje hemodijalize, koja je iznosila 63%] (323).

Pregledni članak Osborna i sar. 2008. godine (pretraga literature do kraja maja 2007 godine), predstavlja dopunu rada Da Silve iz 2003. sa ciljem ispitivanja stope dugoročnosti hemodijaliznog akcesa i komplikacija (tromboza, infekcija, aneurizma, distalna ishemija) uz primenu različitih antikoagulanasa vs. placebo. Učinak tiklopidina je komentarisana na osnovu ponovljenih referenci iz prethodno analiziranih rezultata meta analize, uz kritičan osvrt na ispitivanja uticaja aspirina koja se svode na poteškoće u interpretaciji rezultata (zbog različitih tipova vaskularnog akcesa i velike razlike u primenjenim dozama), navodima o dugoročnom (37 meseci) povoljnom uticaju niskih doza varfarina na patentnost AVG (Crowter MA, et al. 2007) iako je ispitivanje prekinuto zbog porasta krvarećih komplikacija (izbegavati korišćenje ukoliko nema druge indikacije za njegovu upotrebu), efikasnosti dipiridamola i dipiridamola u kombinaciji sa aspirinom (Sreedhara R. Et al. 1994), povoljnom učinku ribljeg ulja 4 mg/dnevno (Schmitz PG, et al. 2002) tokom 12 meseci, ali sa malim brojem ispitanika, sulfinpirazona 4 x 200 mg/dnevno (Michie DD, et al. 1977) na malom broju Brescia-Cimino AVF i klopidogrela (Trimarche H, et al. 2006) kod 24 bolesnika sa AVG tokom 3 godine do prve epizode tromboze. Zaključak autora sadrži potvrdu o povoljnom kratkoročnom učinku antitrombocitnih lekova (tiklopidina, aspirina i klopidogrela) i preporuku »koja se čini razumno« za njihovu upotrebu kod bubrežnih bolesnika sa AVF ili AVG »iako su dugoročni rezultati nejasni«. Navode se i ograničenja meta analize (analizirana istraživanja u rasponu od preko 30 godina, većina istraživanja su imala kratak period praćenja, heterogenost doza i vrste hemodijaliznog pristupa). Takođe se napominje manjak validnih ispitivanja koji bi potvrdili prednosti dugoročnog tretmana antitrombocitnim lekovima (401).

Značajnu meta analizu objavio je i Coleman i sar. 2010. godine o evaluaciji individualnog uticaja antitrombocitnih lekova na prevenciju tromboze u ispitivanjima koja su se bavila AVF, i odvojeno u studijama sa AVG, analizirajući Medline i Cochrane Central Register of Controlled Trials, baze podataka do jula 2009. godine. Limitiranost prethodnih meta analiza koja su kombinovala heterogena ispitivanja i AVF i AVG poboljšana je uključivanjem velikih randomiziranih kontrolisanih studija (Dember LM, et al. Effect of clopidogrel on early failure of arteriovenous fistulas for hemodialysis: a randomized controlled trial. *Jama* 2008; 299 (18): 2164-2171.; Dixon BS, et al. Effect of dipyridamole plus aspirin on hemodialysis graft patency. *New England Journal of Medicine* 2009;360(21):2191-2201), tako da je stepen statističke heterogenosti smanjen. U 6 randomiziranih studija koje su evaluirale incidencu tromboze AVF (1.493 AVF), antitrombocitna terapija je signifikantno snižavala verovatnoću tromboze AVF (uz umeren stepen statističke heterogenosti). U 4 studije koje su evaluirale incidencu tromboze AVG (771 AVG), nije potvrđeno da antitrombocitni lekovi signifikantno snižavaju verovatnoću nastanka tromboze AVG (prisutan umeren stepen statističke heterogenosti), a zaključak meta analize ističe da antitrombocitni lekovi klopidogrel, tiklopidin i aspirin smanjuju šanse za razvoj tromboza AVF (ali ne i AVG), ali da još uvek nema dovoljno podataka za preporuku ili prednost nekog od antitrombocitnih lekova. Takođe se insistira na oprezu zbog mogućih krvarećih ishoda je (mada u nijednom istraživanju nije postojala značajna razlika zastupljenosti krvarenja u odnosu na kontrolnu grupu), kao i da bi pre rutinskog korišćenja antitrombocitne terapije trebalo ispitati/utvrditi i druga važna ishodišta, njihov uticaj na stopu patentnosti i vreme sazrevanja AVF (ili AVG). Autori takođe ističu da tromboza AVF/AVG nastaje rupturom intime koja inicira agregaciju trombocita i formiranje tromba (402).

Urednički tekst Paraskevasa i sar. 2012. godine ističe da za nekoliko lekova postoje saopštenja da poboljšavaju patentnost vaskularnog pristupa – ovaj redakcijski tekst ukratko diskutuje o ulozi antitrombocitnih lekova (aspirina, klopidogrela, tiklopidina, dipiridamola, njihovu kombinovanu upotrebu), statina, folne kiseline (ili njihovo istovremeno korišćenje), antikoagulantnih (varfarina, i.v. UFH, s.c. LMWH) i drugih lekova i adjuvanasa (blokatori kalcijumovih kanala, riblje ulje, kombinacije 3 Ω MK i aspirina) i pozivajući se na konkretna istraživanja iznosi zaključak da antitrombocitni lekovi, statini i drugi lekovi mogu da poboljšaju stopu patentnosti vaskularnog pristupa kod osoba koji se dijaliziraju. Ističe se uticaj kombinovanih ili novijih antitrombocitnih lekova i značaj adjuvantne terapije na produženje stope patentnosti vaskularnog pristupa, i postavlja pitanje potencijala visokih doza statina u poboljšanju njegove patentnosti (uz razmatranje kontraindikacija za njihovo korišćenje u HBB i ciljeva upotrebe u zavisnosti od koncentracije inflamatornih markera) (357).

Rezultati su ukazali da su pored odsustva trombopofilakse, na trombozu/afunkcionalnost distalnih AVF statistički značajan uticaj imali ranije tromboze (prethodno diskutovano) i prethodne aterosklerotske KVB koje su za 86% i 68% smanjivale verovatnoću za adekvatnu maturaciju AVF.

Ovakav nalaz je u saglasnosti sa podacima o postojanju udruženosti između aterosklerotskih bolesti i venskih tromboza i stavova da ateroskleroza može indukovati vensku trombozu ili da su prisutni zajednički faktori rizika (403). Hirurško kreiranje arterijsko-venske anastomoze samo po sebi predstavlja faktor rizika u nastanku tromboze/afunkcionalnosti AVF kome su se u našem istraživanju pridružile ranije KVB u čijoj osnovi je hronična aterosklerotska bolest, hiperlipidemija ili hipertenzija (visoko zastupljene kod naših ispitanika) i hiperkoagulabilno stanje. Treba istaći i povezanost asimptomatske ateroskleroze sa povećanim rizikom od venskog tromboembolizma zbog

aktivacije trombocita, povećane koncentracije koagulacionih faktora, povišenog nivo D dimera, kao i prisustva potencijalnih faktora rizika za razvoj i ateroskleroze i venske tromboze, a koji su zastupljeni i u našem ispitivanju (mada nisu dostigli statističku značajnost između grupa sa trombozom/afunkcionalnom AVF i funkcionalnom AVF) – hiperhomocisteinemije i LA. Statistički značajna razlika u prisustvu antifosfolipidnih ACL IgM antitela, heterozigotnog polimorfizma FV G1691A i homozigotne mutacije gena FII G20210A između ispitivanih podgrupa sa trombozom/afunkcionalnom AVF i funkcionalnom AVF u našem ispitivanju može da se tumači i kao patofiziološka osnova povećanog rizika za nastanak i venskih i arterijskih tromboza, čija bi fenotipizacija predstavljala udružena pojava tromboze/afunkcije AVF i KVB. Uočljivo je takođe prisustvo i drugih zajedničkih faktora rizika arterijskih i venskih tromboza - prekomerna uhranjenost, dijabetes, hipertenzija, pušenje, dislipidemija (snižen nivo HDL-holesterola) (404). Feldman i sar. su potvrdili da je prisustvo ranijih moždanih udara i tranzitornih ishemijskih ataka kod bolesnika smanjivalo verovatnoću uspešne maturatione AVF (405), kao i što svako prisustvo jednog od oblika vaskularne patologije (hiperplazija intime, vaskularna kalcifikacija, medijalna fibroza) koje su visoko zastupljene u HBB predstavlja negativan predisponirajući faktor za maturaciju AVF (406).

Ključni patogeni činilac tromboze vaskularnog pristupa je stenoza u području odvodne vene ili anastomoze nastale razvojem VNH zbog povrede endotela tokom hirurškog kreiranja, poremećenog toka krvi, neadekvatnog »shear stress«-a i izmenjene funkcionalnosti svih komponenti hemostaznog sistema (udružene sa stečenim prisustvom antifosfolipidnih antitela, deficitom prirodnih inhibitora, genskim mutacijama protrombina G201210A i FV Leiden) kao i polimorfizmom gena za $TGF\beta_1$, sintetazu NO, PAI-1, ACE, mthfr i HO-1. Kardiovaskularni faktori rizika - gojaznost, DM, pušenje, arterijska hipertenzija, hiperhomocisteinemija [svako povećanje vrednosti homocisteina za 1.0 μ M

povećava relativni rizik za trombozu fistule za 4% (236)], hiperlipoproteinemija, povećanje Lp(a), biohemijski parametri inflamacije – povišen CRP [prediktorni marker hiperplazije vaskularne intime, CRP > 0.8 mg/dL je bio udružen sa 16 puta povećanim rizikom za trombozu vaskularnog pristupa (407)], hipoalbuminemija (sa malnutricijom provocira stazu krvi), depozicija kalcijuma i fosfata, korišćenje eritropetina i drugih lekova udruženim delovanjima doprinose nastanku tromboze AVF (408).

Tokom prethodnih decenija je srazmerno značaju i veličini problema poremećaja funkcionalnosti hemodijaliznog pristupa uloženi ogroman napor u detekciji prediktivnih parametara maturacije AVF. Brojna ispitivanja uticaja životne dobi, polne pripadnosti (žene), dijabetesa i manjeg promera odvodne vene su i pored konfliktnih rezultata, od strane većine autora prihvaćeni kao faktori rizika za afunkcionalnost AVF. Konsenzus o prediktivnom potencijalu laboratorijsko-biohemijskih parametara nije dostignut, mada bi njihova detekcija i identifikovanje bolesnika sa rizikom za poremećaj funkcionalnosti AVF pomogla u određivanju skrining programa i mera za sprečavanje nepoželjnog ishoda. S obzirom na rezultate najobuhvatnije meta-analize koja se bavila ovim pitanjem pretragom literarnih podataka elektronskih baza MEDLINE, EMBASE i Cochrane Library, od januara 1966. do decembra 2015. sa postavljenim kriterijumom za uključivanje u analizu onih biomarkera koji su određivani u najmanje 3 nezavisna istraživanja u grupi većoj od 100 pacijenata, analizirano je 13 studija. Primetna je razlika između studija u definisanju ispada funkcionalnosti AVF i korelacije ispitivanih markera sa stenozom ili restenozom (6), trombozom AVF (4) i objedinjenom stenozom i trombozom AVF (2). S druge strane u 3 studije su laboratorijski nalazi određivani iz uzoraka krvi uzetih pre ili u vreme kreacije AVF, u 4 u vreme ispada funkcionalnosti AVF, dok je u 3 istraživanja određivanje biomarkera vršeno unutar 6 meseci pre ispada funkcije AVF. Rezultat meta-analize potvrđuju da ni za jednog od 12 biomarkera (albumin, Ca⁺⁺, kreatinin, CRP, feritin,

hemoglobin, HDL-holesterol, LDL-holesterol, PTH, fosfor, ukupni holesterol, trigliceridi), nije utvrđena statistički značajna korelacija sa afunkcionalnošću AVF bez obzira na definiciju ispada njene funkcionalnosti, dok su jedino albumin i CRP procenjeni kao biomarkeri koji bi mogli biti podvrgnuti dodatnoj statističkoj subanalizi, koja nije potvrdila postojanje korelaciji ova dva biomarkera sa stenozom ili trombozom AVF. Kao najvažniji razlog ovakvih rezultata navodi se heterogenost istraživanja u mnogim aspektima: razlike u metodama merenja biomarkera, vreme određivanja laboratorijskih analiza u odnosu na procenu funkcionalnosti AVF, različito definisan primarni ishod studija, različite lokacije AVF (u većini istraživanja radiocafalična ili brahiocefalična fistula) (409).

Utvrđivanje prediktivnih parametara maturacije AVF određivanjem biomarkera udruženih sa poremećajem njene protočne funkcije nije vršeno (posebno u grupi ispitanika sa trombozom/afunkcijom AVF ispitivanjem korelacije hemostaznih parametara i prolaznih i trajnih kliničko-laboratorijskih faktora rizika) jer smo smatrali da pojedinačne korelacije ne bi mogli posmatrati kao prediktorne činioce za trombozu/afunkcionalnost AVF već kao prisutne parametre od kojih su neki stalni, dok su drugi podložni promenama pod uticajem dinamike osnovne bolesti, tako da njihov uticaj na sazrevanje AVF treba razumeti kao udruženo kompleksno dejstvo stečenih i urođenih faktora rizika sa neizvesnim, odnosno individualnim ishodom.

Deo rezultata našeg istraživanja je takođe u skladu i sa radom Bashara i sar. (410) koji nije utvrdio značajnu statističku povezanost životne dobi, hipertenzije, dijabetesa, pušenja, hiperlipidemije, kongestivne kardiomiopatije, započinjanja hemodijalize pre kreiranja AVF, prethodnih hemodijaliza preko CVK i prethodnih pokušaja kreiranja AVF sa stopom uspešno maturiranih primarnih AVF. Ova retrospektivna analiza demantovala je signifikantnost uticaja prethodne hemodijalize na maturaciju novokreirane AVF, bez obzira na način njenog sprovođenja (preko CVK, AVF ili AVG) ili nakon disfunkcije

prethodno kreirane AVF. Takođe, lokalizacija novokreirane AVF nije značajno uticala na ishod maturacije. Ove činjenice pominjemo s obzirom da u našem istraživanju nismo posebno analizirali uticaj istovremenog sprovođenja hemodijalize pre ili nakon kreiranja AVF, kao i zbog toga što su i u našem istraživanju bile zastupljene AVF različite lokalizacije, ali sa dominantnim prisustvom radiocefalične AVF (89/121; 73.6%).

Jedan od najvažnijih činilaca primarne i sekundarne patentnosti vaskularnog pristupa za hemodijalizu predstavljaju varijacije u hirurškim tehnikama i iskustvo operatora. Trogodišnja patentnost hemodijaliznog akcesa varirala je od 34% do 62% u zavisnosti od hirurga, a razlikama u njihovoj veštini i pristupu objašnjavaju se i češća zastupljenost određene vrste i lokalizacije hemodijaliznog pristupa kao i odnos prema hitnosti za rešavanje tromboze akcesa (343, 394). Pojedini autori u radovima koji se bave procenom ishoda maturacije ističu potrebu kreiranja vaskularnog pristupa od strane jednog, iskusnog hirurga u cilju standardizacije i postizanja homogenosti ispitivane grupe, dok Saran i sarad. u studiji sprovedenoj u 12 različitih zemalja (DOPPS) ističu da je primarna afunkcionalnost bila niža za 34% ako je fistula bila plasirana od strane treniranog hirurga koji je kreirao više od 25 AVF (411).

Najznačajnija komplikacija u našem istraživanju je inflamacija AVF tokom perioda praćenja kod 4 (3.3%) ispitanika, s tim da je AVF samo kod jednog uspešno maturirala, dok je kod ostala 3 bolesnika došlo do tromboze/afunkcije AVF i pored parenteralne primene antibiotika. Pojava značajnih krvarenja kao posledica primene antitromboznih lekova nije zabeležena, dok je kod samo jednog ispitanika (0.83%) kod koga je bio primenjivan niskomolekulski heparin maturacija AVF (koja se uspešno okončala) bila praćena hematonom lokalizovanim oko venske grane distalne AVF koji se primenom lokalne terapije resorbovao. Na osnovu našeg istraživanja možemo konstatovati da je primena 250 mg tiklopidina dnevno podeljenog u dve jednake doze, kod bolesnika sa

HBI sigurna u smislu odsustva krvarećih komplikacija i neželjenih efekata (aplazija kosne srži, leukopenija, neutropenija, trombocitopenija, gastrointestinalne tegobe, osipi kože) koji predstavljaju najvažniji razlog njegove smanjene upotrebe u primarnoj i sekundarnoj prevenciji KVB (412). Međutim i pored pozitivnog iskustva sa upotrebom tiklopidina slažemo se sa zaključcima sveobuhvatnih meta analiza Palmera i sar. koji su na osnovu 21 kvalifikovane studije (4.826 ispitanika) zaključili da antitrombocitna terapija štiti AVF od tromboze ili gubitka patentnosti ali da ima mali ili nikakav uticaj na patentnost AVG i neizvestan učinak na maturaciju vaskularnog pristupa za dijalizu i velika krvarenja (413). Isti autori su u proširenoj analizi (50 radova koji su obuhvatili 27.139 učesnika) zaključili da upotreba antitrombocitne terapija u HBB između ostalog povećava rizik od klinički značajnih (velikih) krvarenja (19 radova; RR 0.89, 95% CI 0.70-1.12) i malih krvarećih komplikacija (11 radova; RR 1.00, 95% CI 0.58-1.72) bez obzira koji je antitrombocitni lek u pitanju ili u kom stadijumu bolesti je primenjen, kao i da antitrombocitna terapija smanjuje trombozu ili ispad patentnosti vaskularnog akcesa, ali da nema uticaja na njegovu »podobnost« za sprovođenje hemodijaliznog tretmana (307).

Tokom subkutane primene nadroparin-kalcijuma 0.3 ml (2.850 i.j) takođe nije zabeležena pojava komplikacija u smislu velikih krvarenja, a pojava hematoma na mestu incizije u operativnom polju je zapaženo i od drugih autora kao najčešća nuspojava tokom njegove primene. Hronična upotreba nadroparin-kalcijuma nije bila praćena ni jednim zabeleženim oblikom HIT, što odgovara navodima da je njegova upotreba udružena sa vrlo niskom incidencom trombocitopenije (414). Profilaktička primena s.c. nadroparin-kalcijuma kod HBB nije bila praćena znacima bioakumulacije leka i pratećim neželjenim događajima.

Naše istraživanje je imalo nekoliko ograničenja. Prvo se odnosi na ograničen broj ispitanika, koji limitira ubedljiviju potvrdu preventivnog učinka antitromboznih lekova na

nastanak rane tromboze AVF za hemodijalizu u bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom i/ili veću efikasnost jednog od njih - primenjenog antitrombotnog ili antikoagulantnog leka. Drugo ograničenje istraživanja predstavlja manja zastupljenost ispitanika ženskog pola koja je delimično diktirana i incidencijom HBI u našoj populaciji, a koje je umanjilo mogućnost ispitivanja uticaja pola na maturaciju i funkcionalnost AVF, odnosno veću zastupljenost tromboze/afunkcionalnosti AVF u jednoj od ove dve grupe. Značajano ograničenje nastalo je zbog otežane potvrde tromboznog procesa kreirane AVF ultrasonografskom metodom i utvrđivanja prisustva drugih uzroka nefunkcionalnosti tokom 6 nedelja njene maturacije zbog čega smo zauzeli stav da nakon isključenja hirurških peri/postoperativnih komplikacija nastalih unutar 24 h, koristimo termin tromboza/afunkcionalnost AVF, da bi smo sem tromboze istakli uticaj i drugih mogućih patofizioloških mehanizama. Otežana potvrda tromboznog procesa kreirane AVF uzrokovana je otpuštanjem ispitanika sa bolničkog lečenja nakon kreiranja AVF, kreiranjem AVF po pozivu i kratke hospitalizacije zbog smanjenog posteljnog kapaciteta, nejavljanjem ili kasnim dolaskom na kontrolni pregled kod nadležnog nefrologa u slučaju zatajivanja rada AVF zbog udaljenosti mesta stanovanja, ograničenih mogućnosti transporta, skromnih materijalnih prilika ili nemogućnosti obavljanja ultrasonografskog pregleda AVF u zdravstvenoj instituciji u mestu stanovanja.

Kao ograničenje istraživanja navodimo i nemogućnost angažovanja samo jednog hirurga za kreiranje AVF iz mnogo razloga koji se odnose na organizaciju rada na Klinici za vaskularnu hirurgiju.

Ograničenje našeg istraživanja predstavlja i činjenica da nismo utvrdili tačan broj ispitanika kojima je pre kreiranja ili tokom sazrevanja AVF bilo indikovano započinjanje hemodijaliznog tretmana, kojih je u KCV u ranijem periodu bilo oko 10% (344). Ovaj podatak ističemo zbog činjenice da HD bez obzira na administraciju heparina tokom

njenog sprovođenja dovodi do signifikantnog povećanja protrombogenih i proinflamatornih markera (P-selektin, CD40L-TNF, trombocitni fibrinogen, TAT, D dimer, vWF i CRP) koji mogu imati uticaj na ishod sazrevanja AVF (410).

Jedno od ograničenja je i odsustvo podataka o korišćenju eritropoetina kod naših ispitanika u smislu utvrđivanja uticaja na maturaciju AVF jer pored pozitivnog uticaja na anemiju, administracija eritropoetina predstavlja faktor rizika za trombozu AVF kod hemodijaliziranih bolesnika (415).

Metode statističke obrade rezultata su zbog relativno malog broja ispitanika (pozitivnih pojedinih kategorijskih varijabli – broj tromboziranih fistula, markeri trombofilije) u ispitivanim grupama kod kojih je došlo do tromboziranja AVF, bile ograničene na testove sa relativno malom snagom statističkog testa. Za potrebe logističke regresione analize kojom je posmatran prediktivni potencijal pojedinačnih faktora na maturaciju fistule, zbog relativno malog broja nepovoljnih ishoda, ali i metodološke opravdanosti izvođenja statističke analize (vrednosti koeficijentata koji procenjuju kvalitet modela), različiti farmakoprolaktički režimi su posmatrani objedinjeno kao antirombozni profilaktički režim.

Shodno pristupu drugih autora u našem radu smo u ciju identifikacije parametara koji su imali statički značajan prediktivni potencijal u odnosu na maturaciju fistule primenili univarijantnu logističku regresionu analizu, pri čemu je najznačajniji prediktivni potencijal za razvoj funkcionalne AVF imala primena antitrombozne terapije, dok prethodne tromboze višestruko povećavaju rizik za nastanak tromboze AVF tokom njene maturacije. Izvojenom univarijantnom logističko regresionom analizom koja se odnosi na distalne AVF najznačajniji prediktivni potencijal za sniženje rizika za nastanak njene tromboze/afunkcionalnosti takođe je primena antitrombozne terapije, dok je kod bolesnika koji su imali aterosklerotske KVB i ranije tromboze verovatnoća za adekvatnu maturaciju

distalne AVF je niža za 68% , odnosno 86%. Izabranom metodom nije uzet u obzir moguć udruženi uticaj drugih činilaca koji mogu doprineti uspešnoj maturaciji ili trombozi/afunkcionalnosti AVF, što takođe može da se posmatra kao ograničenje našeg istraživanja i pored činjenice da primena multivarijantne logističke regresione analize sa umnoženim varijablama umanjuje šanse isticanja njihovog prediktivnog potencijala.

Zbog kompleksnosti mehanizama ranog poremećaja funkcije novokreirane AVF, prihvatljiv je stav da »kontrolom« jednog činioca ili uzročnog faktora nije moguće sprečiti disfunkciju AVF tj. da zbog multikauzalnosti i veličine problema trenutno ni jedna preventivna farmakološka mera nije potpuno pouzdana i dovoljna za sprečavanje tromboze AVF (256), ali se sa sigurnošću može zaključiti da razumna upotreba tiklopidina i nadroparin-kalcijuma u bolesnika sa novokreiranom AVF može biti korisna u prevenciji njene tromboze/afunkcionalnosti i zbog toga od značaja za dugoročnost njene patentnosti bez signifikantnog rizika od krvarenja.

15. ZAKLJUČCI

1. Profilaktička primena antitromboznih lekova (tiklopidina i nadroparin-kalcijuma) smanjuje učestalost pojave rane tromboze i pojavu primarne nefunkcionalnosti AVF za hemodijalizu tokom njene maturacije.
2. Primena antitrombozne terapije petostruko snižava rizik za nastanak tromboze/afunkcionalnosti distalne AVF tokom njene maturacije.
3. Bolesnici koji su imali prethodne tromboze imaju višestruko povišen rizik za nastanak tromboze AVF tokom njene maturacije.
4. Kod bolesnika koji su imali aterosklerotske KVB i ranije tromboze verovatnoća za adekvatnu maturaciju distalne AVF je niža za 68% , odnosno 86%.
5. U našem istraživanju nije utvrđeno postojanje superiornosti antikoagulantne u odnosu na antitrombocitnu profilaksu tj. oba primenjena režima su bila podjednako efikasna.
6. U terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji prisutan je značajan poremećaj funkcionalnosti hemostaznog sistema koji se očituje u disfunkciji endotela i poremećenoj (sniženoj) funkcionalnosti trombocita, prisustvu prokoagulantnog stanja koje se manifestuje povišenom trombinskom aktivnošću, povišenom koncentracijom činilaca koagulacije i smanjenom fibrinoliznom aktivnošću.
7. Češća zastupljenost ukupnih ranijih tromboza (arterijskih i venskih), češća zastupljenost izolovanih venskih tromboza i učestalije prisustvo trombofilije prezentovano deficitom PC, prisustvom rezistencije na APC, antifosfolipidnih antikardiolipinskih antitela IgM, heterozigotnog polimorfizma FV G1691A, homozigotne mutacije FII G201210A i niža vrednost agregabilnosti trombocita uz kolagen kao induktor su markeri koji su u našem ispitivanju signifikantno češće zastupljeni kod ispitanika sa trombozom/afunkcijom AVF za hemodijalizu tokom njenog sazrevanja.

8. Trombofilija je prisutna kod 48.8 % bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom, ali našim ispitivanjem nije utvrđen njen uticaj na nastanak rane tromboze/afunkcionalnosti AVF izuzev u grupi bolesnika sa kombinovanom trombofilijom.

9. Mali broj krvarećih komplikacija u našoj studiji ukazuje na bezbednost primenjenog preventivnog režima.

10. Na osnovu dobijenih rezultata može se preporučiti profilaktička primena tiklopidina ili nadroparin-kalcijuma u preventivnim dozama kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom neposredno nakon kreiranja AVF. Primenu profilakse tromboznih komplikacija kod bolesnika sa novokreiranom AVF preporučujemo posebno kod bolesnika koji su imali prethodne tromboze i/ili kliničke manifestacije aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti.

16. LITERATURA

1. Hoffbrand AV, Moss PAH, Pettit JE. Platelets, blood coagulation and haemostasis. *Haematology* 2008;264–277.
2. Riddel JP, Aouizerat BE, Miaskowski C, Lillicrap DP. Theories of blood coagulation. *Journal of Pediatric Oncology Nursing* 2007;24(3):123-131.
3. Colman RW, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ, Marder VJ. Overview of hemostasis. In Colman RW, Clowes AW, Goldhaber SZ, Marder VJ, George JN. *Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice*. 5th edition, Lippincott Williams & Wilkins 2006.
4. Versteeg HH, Heemskerk JW, Levi M, Reitsma PH. New fundamentals in hemostasis. *Physiological reviews* 2013;93(1):327-358.
5. Macfarlane RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biological amplifier. *Nature* 1964;202:498–499.
6. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science* 1964;145:1310-12.
7. Mann KG, Krishnaswamy S, Lawson JH. Surface-dependent hemostasis. *Seminars in hematology* 1992;29(3):213-226.
8. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and Haemostasis* 2001;85(6):958-965.
9. Smith SA. The cell-based model of coagulation. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 2009;19(1):3-10.
10. Hoffman M. Remodeling the blood coagulation cascade. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2003;16(1-2):17-20.
11. Roberts HR, Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of thrombin generation. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2006;32(1):32-38.

12. Soh UJ, Dores MR, Chen B, Trejo J. Signal transduction by protease-activated receptors. *British journal of pharmacology* 2010;160(2):191-203.
13. Adams MN, Ramachandran R, Yau MK, Suen JY, Fairlie DP, Hollenberg MD, et al.. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors. *Pharmacology & therapeutics* 2011;130(3):248-282.
14. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: a short history. *Thrombosis research* 2012;129(3):250-256.
15. Monroe DM, Hoffman M. What does it take to make the perfect clot?. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:41-48.
16. Hoffman M, Monroe DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematology/oncology clinics of North America* 2007;21(1):1-11.
17. Siller-Matula JM, Schwameis M, Blann A, Mannhalter C, Jilma B. Thrombin as a multi-functional enzyme. *Thromb Haemost* 2011;106(6):1020-1033.
18. Vučković B. Poremećaj funkcionalnosti fibrinoliznog mehanizma kod bolesnika sa venskom trombozom. Doktorska disertacija. Novi Sad 2014.
19. Del Rosso M, Fibbi G, Pucci M, Margheri F, Serrati S. The plasminogen activation system in inflammation. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library* 2007; 13:4667-4686.
20. Bouma BN, Mosnier LO. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)—How does thrombin regulate fibrinolysis?. *Annals of medicine* 2006; 38(6): 378-388.
21. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2015;13(S1):98-105.
22. Antić D, Elezović I. Molekularne osnove sekundarne hemostaze (koagulacija, fibrinoliza) i tromboze. U: Mihaljević B. (eds) *Klinička hematologija, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva*, Beograd 2012:715-720.

23. Lučić A. Fiziologija hemostaznog sistema. U: Stefanović S. (eds) Hematologija. Medicinska knjiga Beograd Zagreb 1989:1013-66.
24. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *The Lancet* 2012;379(9811):165-180.
25. Mills KT, Xu Y, Zhang W, Bundy JD, Chen CS, Kelly TN, et al. A systematic analysis of worldwide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010. *Kidney Int* 2015;88:950–957.
26. Merkin SS, Diez Roux AV, Coresh J, Fried LF, Jackson SA, Powe NR. Individual and neighborhood socioeconomic status and progressive chronic kidney disease in an elderly population: the Cardiovascular Health Study. *Social Sci Med* 2007;65:809–821.
27. Chugh KS, Jha V, Chugh S. Economics of dialysis and renal transplantation in the developing world. *Transplant Proc* 1999;31:3275–3277.
28. United States Renal Data System. *USRDS 2012 annual data report: atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the United States*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2012.
29. Jha V, Wang AY, Wang H. The impact of CKD identification in large countries: the burden of illness. *Nephrol Dial Transplant* 2012;(suppl 3):27iii32–38.
30. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* 2013;382(9888):260-272.
31. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *Jama* 2007;298(17): 2038-2047.
32. Zhang QL, Rothenbacher D. Prevalence of chronic kidney disease in population-based studies: systematic review. *BMC public health* 2008;8(1):117.

33. Nitsch D, Grams M, Sang Y, Black C, Cirillo M, Djurdjev O, et al. Associations of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with mortality and renal failure by sex: a meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)* 2013; 346: f324.
34. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *New England Journal of Medicine* 2006; 354(23):2473-2483.
35. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39 (Suppl 1):1-266.
36. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3:1-150.
37. Hedgeman E, Lipworth L, Lowe K, Saran, R, Do T, Fryzek J. International burden of chronic kidney disease and secondary hyperparathyroidism: a systematic review of the literature and available data. *International journal of nephrology* 2015, vol. 2015. Article ID 184321 [Internet]. 2015 March [cited 2016 April 21]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/184321>
38. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča u kliničkoj praksi. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za prevenciju, dijagnostikovanje i lečenje hronične bolesti bubrega; Beograd 2013.
39. Čabarkapa V. Odnos specifičnih biomarkera i progresije hronične bubrežne insuficijencije u bolesnika sa dijabetesnom nefropatijom. Doktorska disertacija. Novi Sad 2011.

40. Inker LA, Astor BC, Fox CH, Isakova T, Lash JP, Peralta CA, et al. KDOQI US commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of CKD. *American Journal of Kidney Diseases* 2014;63(5):713-735.
41. Udruženje nefrologa srbije. Godišnji izveštaj o vaskularnim pristupima za hemodijalizu u Srbiji, 2013. godine. Štampa Shop, Beograd 2015.
42. Pavord S, Myers B. Bleeding and thrombotic complications of kidney disease. *Blood reviews* 2011;25(6):271-278.
43. Jalal DI, Chonchol M, Targher G. Disorders of hemostasis associated with chronic kidney disease. *Semin Thromb Hemost* 2010;36(1):34-40.
44. Fox CS, Larson MG, Leip EP, Culleton B, Wilson PW, Levy D. Predictors of new-onset kidney disease in a community-based population. *JAMA* 2004; 291: 844 –850.
45. Parikh AM, Spencer FA, Lessard D, Emery C, Baylin A, Linkletter C, et al. Venous thromboembolism in patients with reduced estimated GFR: a population-based perspective. *American Journal of Kidney Diseases* 2011;58(5):746-755.
46. Ocak G, Verduijn M, Vossen CY, Lijfering WM, Dekker FW, Rosendaal FR, et al. Chronic kidney disease stages 1–3 increase the risk of venous thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010;8(11):2428-2435.
47. Wattanakit K, Cushman M. Chronic kidney disease and venous thromboembolism: epidemiology and mechanisms. *Current opinion in pulmonary medicine* 2009;15(5): 408-412.
48. Yerkey MW, Kernis SJ, Franklin BA, Sandberg KR, McCullough PA. Renal dysfunction and acceleration of coronary disease. *Heart* 2004;90(8):961- 966.
49. Whaley-Connell AT, Sowers JR, Stevens LA, McFarlane SI, Shlipak MG, Norris KC et al. Kidney Early Evaluation Program Investigators CKD in the United States. *Kidney*

Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2004. *Am J Kidney Dis* 2008;51(suppl 2): S13-S20.

50. McCullough PA, Jurkowitz CT, Pergola PE, McGill JB, Brown WW, Collins AJ, et al. Independent Components of Chronic Kidney Disease as a Cardiovascular Risk State: Results From the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Arch Intern Med.* 2007; 167(11):1122-1129.

51. Casserly LF, Dember LM. Thrombosis in End-Stage Renal Disease. *Seminars in dialysis* 2003;16(3):245-256.

52. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJL, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *The Lancet* 2013;382(9889):339-352.

53. van der Velde M, Matsushita K, Coresh J, Astor BC, Woodward M, Levey A, et al. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int* 2011;79(12):1341–1352

54. De Jong PE, van der Velde M, Gansevoort RT, Zoccali C. Screening for chronic kidney disease: where does Europe go?. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:616–623

55. Morgani GB. *Opera omnia in quinque tomos divisa*, Venice 1764.

56. Richard B. Tabular view of the morbid appearances in 100 cases connected with albuminous urine, with observations. In: *Guy's Hospital Reports* 1836;380-400.

57. Özkan G, Ulusoy Ş. Bleeding diathesis in hemodialysis patients. Intech Open Access Publisher 2013. [Internet]. 2013. [cited 2016 May 6]; Available from: http://cdn.intechopen.com/pdfs/43000/InTech-Bleeding_diathesis_in_hemodialysis_patients.pdf

58. Astrup T. The haemostatic balance. *Thrombosis et diathesis haemorrhagica* 1958; 2(3-4):347-357.
59. Inagami T, Naruse M, Hoover R. Endothelium as an endocrine organ. *Annual review of physiology* 1995;57(1):171-189.
60. Simionescu M, Gafencu A, Antohe F. Transcytosis of plasma macromolecules in endothelial cells: a cell biological survey. *Microscopy research and technique* 2002; 57(5):269-288.
61. Wagner DD, Frenette PS. The vessel wall and its interactions. *Blood* 2008;111(11): 5271-5281.
62. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *New England Journal of Medicine* 2008;359(9):938-949.
63. Hirschi KK, Ingram DA, Yoder MC. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2008; 28(9):1584-1595.
64. Galley HF, Webster NR. Physiology of the endothelium. *British journal of anaesthesia* 2004;93(1):105-113.
65. Aird WC. Endothelial cell dynamics and complexity theory. *Critical care medicine* 2002;30(5):S180-S185.
66. Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *Journal of the American Society of Hypertension*, 2012;6(2):85-99.
67. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002;105(5):546-549.
68. Dudzinski DM., Igarashi J, Greif D, Michel T. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006;46:235–276.

69. Chatterjee A, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascular pharmacology* 2008;49(4):134-140.
70. Rensen SSM, Doevendans PAFM, Van Eys GJJM. Regulation and characteristics of vascular smooth muscle cell phenotypic diversity. *Netherlands Heart Journal* 2007; 15(3):100-108.
71. Orr AW, Hastings NE, Blackman BR, Wamhoff BR. Complex regulation and function of the inflammatory smooth muscle cell phenotype in atherosclerosis. *Journal of vascular research* 2009;47(2):168-180.
72. Grumbach IM, Chen W, Mertens SA, Harrison DG. A negative feedback mechanism involving nitric oxide and nuclear factor kappa-B modulates endothelial nitric oxide synthase transcription. *Journal of molecular and cellular cardiology* 2005;39(4):595-603.
73. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 2011;300(1):H2-H12.
74. Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EH, Feletou M. Endothelial dysfunction and vascular disease. *Acta physiologica* 2009;196(2):193-222.
75. Mitchell JA, Ali F, Bailey L, Moreno L, Harrington LS. Role of nitric oxide and prostacyclin as vasoactive hormones released by the endothelium. *Experimental physiology* 2008;93(1):141-147.
76. Mijović R. Ispitivanje endotelne disfunkcije i postojanje rezistencije na antitrombocitnu terapiju kod bolesnika sa tipom II dijabetes melitusa. Doktorska disertacija. Novi Sad 2016.
77. van Hinsbergh VW. Endothelium-role in regulation of coagulation and inflammation. *Seminars in immunopathology* 2012;34(1):93-106.

78. Zoccali C. Traditional and emerging cardiovascular and renal risk factors: an epidemiologic perspective. *Kidney Int* 2006;70(1):26-33.
79. Rigalleau V, Gin H. Carbohydrate metabolism in uraemia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8:463-469.
80. Hörl WH. The Development of our understanding of uremia. In: Ing TS, Rahman MA, Kjellstrand CM. *Dialysis: History, Development, and Promise*. World scientific, Singapore 2012;3-12.
81. McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:7–18.
82. Kobayashi S, Maesato K, Moriya H, Ohtake T, Ikeda T. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases* 2005;45(2):275–280.
83. DeFronzo RA, Alvestrand A, Smith D. Insulin resistance in uremia. *Journal of Clinical Investigation* 1981;67(2):563–568.
84. Shinohara K, Shoji T, Emoto M, Tahara H, Koyama H, Ishimura E, et al. Insulin resistance as an independent predictor of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology* 2002;13(7): 1894–1900.
85. Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J, Cano N, Chauveau P, Cuppari L, et al. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein energy wasting in acute and chronic kidney disease. *Kidney International* 2008;73(4):391–398.
86. Liao MT, Sung CC, Hung KC, Wu CC, Lo L, Lu KC. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, vol. 2012. Article ID 691369 [Internet]. 2010 July [cited 2016 May 27]; Available from: <http://doi.org/10.1155/2012/691369>

87. Libetta, C, Sepe V, Esposito P, Galli F, Dal Canton A. Oxidative stress and inflammation: implications in uremia and hemodialysis. *Clinical biochemistry* 2011; 44(14):1189-1198.
88. Dounousi E, Papavasiliou E, Makedou A, Ioannou K, Katopodis KP, Tselepis A, et al. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *Am J Kidney Dis* 2006;48(5):752–760.
89. Kao MPC, Ang DSC, Pall A, Struthers AD. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *Journal of human hypertension* 2010;24(1):1-8.
90. Stocker R, Keaney Jr JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84(4):1381–1478.
91. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(7):1272–1280.
92. Descamps-Latscha B, Drueke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dialysis* 2001;14(3): 193–199.
93. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002;62:1524-1538.
94. Capeillere-Blandin C, Gausson V, Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochim Biophys Acta* 2004;1689:91-102.
95. Miyata T, Sugiyama S, Saito A, Kurokawa K. Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity (“carbonyl stress”). *Kidney International* 2001;59:S25-S31.

96. Davi G, Guagnano MT, Ciabattini G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M, et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA* 2002;288(16):2008–2014.
97. Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO, Paragano A, Cacharron JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol* 2006;5 (1):1-18.
98. Carrero JJ, Stenvinkel P. Inflammation in chronic kidney disease. In Kopple JD, Massry SG, Kalantar-Zadeh K. *Nutritional Management of Renal Disease*, Third edition, Academic Press, London 2013;79-92.
99. Gupta J, Mitra N, Kanetsky PA, Devaney J, Wing MR, Reilly M, et al. Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *Clinical Journal of the American Society of nephrology* 2012;7(12):1938-1946.
100. Cohen SD, Phillips TM, Khetpal P, Kimmel PL. Cytokine patterns and survival in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2010;25:1239-1243.
101. Raj DS, Pecoits-Filho R, Kimmel PL. Inflammation in Chronic Kidney Disease. In: Kimmel PL, Rosenberg ME. *Chronic Renal Disease* 2014; 199-212. Academic Press Inc, USA, Cambridge, Massachusetts. DOI:10.1016/B978-0-12-411602-3.00077-9
102. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson RJ, Lindholm B, Pecoits-Filho R, Riella M, et al. IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, the bad, and the ugly. *Kidney international* 2005;67(4):1216-1233.
103. Avesani CM, Carrero JJ, Axelsson J, Qureshi AR, Lindholm B, Stenvinkel P. Inflammation and wasting in chronic kidney disease: partners in crime. *Kidney Int Suppl* 2006;70:S8-S13.
104. Filiopoulos V, Vlassopoulos D. Inflammatory syndrome in chronic kidney disease: pathogenesis and influence on outcomes. *Inflammation & Allergy-Drug Targets* 2009; 8(5):369-382.

105. Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubina P, Lahera V, Luno J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2008;74:S4–S9.
106. Carrero JJ, Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal disease-what have we learned in 10 years?. *Seminars in dialysis* 2010;23(5):498-509.
107. Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology today* 1994;15(2):81-88.
108. Shlipak MG, Fried LF, Crump C, Bleyer AJ, Manolio TA, Tracy RP, et al. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation* 2003;107(1):87-92.
109. Stenvinkel P, Lindholm B, Heimbürger M, Heimbürger O. Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in pre-dialysis patients: association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2000;15(10):1624-1630.
110. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology* 2010;17(4):311-321.
111. Margetic S. Inflammation and hemostasis. *Biochemia Medica* 2012;22(1):49-62.
112. Lisowska-Miyak B. Uremic toxins and their effects on multiple organ systems. *Nephron Clin Pract* 2014;128(3-4):303-311.
113. Uremic Toxin – Data Base. European Uremic Toxin (EUTox) Work Group of the ESAO and endorsed Work Group of the ERA-EDTA [Internet]. 2016 [cited 2016 Jun 2]; Available from: <http://www.uremic-toxins.org/DataBase.html>
114. Glorieux G, Schepers E, Vanholder RC. Uremic toxins in chronic renal failure. *Prilozi-Makedonska akademija na naukite i umetnostite. Oddelenie za biološki i medicinski nauki* 2007;28(1):173–204.

- 115.Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JFE. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 2007;116:85–97.
- 116.Schiffrin EL, Park JB, Pu Q. Effect of crossing over hypertensive patients from a beta-blocker to an angiotensin receptor antagonist on resistance artery structure and on endothelial function. *Journal of Hypertension* 2002;20:71-78.
- 117.Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci* 2011; 9(10):1057-1069.
- 118.Creager MA, Luscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Diabetes and Vascular Disease. Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. *Circulation* 2003;108:1527-1532.
- 119.Sena CM, Pereira AM, Seica R. Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta* 2013;1832:2216-2231.
- 120.van den Oever IAM, Raterman HG, Nurmohamed MT, Simsek S. Endothelial dysfunction, inflammation, and apoptosis in diabetes mellitus. *Mediators of Inflammation*, vol. 2010; Article ID 792393. [Internet]. 2010 March [cited 2016 Jun 11]; Available from: doi:10.1155/2010/792393
- 121.Yan SF, D'Agati V, Schmidt AM, Ramasamy R. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE): a formidable force in the pathogenesis of the cardiovascular complications of diabetes & aging. *Current molecular medicine* 2007;7(8):699–710.
- 122.Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006; 114(6):597-605.
- 123.Gutterman DD. Vascular Dysfunction in Hyperglycemia Is Protein Kinase C the Culprit?. *Circ Res* 2002;90(1):5-7.
- 124.Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol Rev* 2007;87(1):315-424.

125. Popov D. Endothelial cell dysfunction in hyperglycemia: Phenotypic change, intracellular signaling modification, ultrastructural alteration, and potential clinical outcomes. *International Journal of Diabetes Mellitus* 2010;2(3):189-195.
126. Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, et al. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res* 2001;88:e14-e22.
127. Brownlee M. The Pathobiology of Diabetic Complications. A Unifying Mechanism. Banting Lecture 2004. *Diabetes* 2005;54:1615-1625.
128. Kaysen GA. Lipid and lipoprotein metabolism in chronic kidney disease. *Journal of Renal Nutrition* 2009;19(1):73-77.
129. Vaziri ND. Dyslipidemia of chronic renal failure: the nature, mechanisms, and potential consequences. *Am J Physiol Ren Physiol* 2006;290:262-272.
130. Vaziri ND, Liang K. Down-regulation of tissue lipoprotein lipase expression in experimental chronic renal failure. *Kidney international* 1996;50(6):1928-1935.
131. Cheung AK, Parker CJ, Ren K, Iverius PH. Increased lipase inhibition in uremia: identification of pre- β -HDL as a major inhibitor in normal and uremic plasma. *Kidney international* 1996;49(5):1360-1371.
132. Moberly JB, Attman P, Samuelsson O, Johansson A, Knight-Gibson C, et al. Apolipoprotein C-III, hypertriglyceridemia and triglyceride-rich lipoproteins in uremia. *Mineral and electrolyte metabolism* 2000; 25(4-6): 258-262.
133. Prinsen BH, de Koning EJ, Koomans HA, Berger R, Rabelink TJ. Hypertriglyceridemia in patients with chronic renal failure: possible mechanisms. *Kidney International* 2003;63:121-124.
134. Fliser D, Pacini G, Engelleiter R, Kautzky-Willer A, Prager R, Franek E, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia are already present in patients with incipient renal disease. *Kidney international* 1998;53(5):1343-1347.

- 135.Vega GL, Toto RD, Grundy SM. Metabolism of low density lipoproteins in nephrotic dyslipidemia: comparison of hypercholesterolemia alone and combined hyperlipidemia. *Kidney international* 1995;47(2):579-586.
- 136.Warwick GL, Packard CJ. Lipoprotein metabolism in the nephrotic syndrome. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1993;8(5):385-396.
- 137.Liang K, Vaziri ND. Gene expression of lipoprotein lipase in experimental nephrosis. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1997;130(4):387-394.
- 138.Shearer GC, Stevenson FT, Atkinson DN, Jones H, Staprans I, Kaysen GA. Hypoalbuminemia and proteinuria contribute separately to reduced lipoprotein catabolism in the nephrotic syndrome. *Kidney international* 2001;59(1):179-189.
- 139.Liang K, Vaziri ND. Gene expression of LDL receptor, HMG-CoA reductase, and cholesterol-7 alpha-hydroxylase in chronic renal failure. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1997;12(7):1381-1386.
- 140.Deighan CJ, Caslake MJ, McConnell M, Boulton-Jones JM, Packard CJ. The atherogenic lipoprotein phenotype: small dense LDL and lipoprotein remnants in nephrotic range proteinuria. *Atherosclerosis* 2001;157(1):211-220.
- 141.Vaziri ND, Liang K. Up-regulation of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT) in nephrotic syndrome. *Kidney international* 2002;61(5):1769-1775.
- 142.Longenecker JC, Klag MJ, Marcovina SM, Powe NR, Fink NE, Giaculli F, et al. Small apolipoprotein (a) size predicts mortality in end-stage renal disease The CHOICE Study. *Circulation* 2002;106(22):2812-2818.
- 143.Harper CR, Jacobson TA. Managing dyslipidemia in chronic kidney disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2008;51(25):2375-2384.
- 144.Liberopoulos EN, Papavasiliou E, Miltiadous GA, Cariolou M, Siamopoulos KC, Tselepis AD, et al. Alterations of paraoxonase and platelet-activating factor

acetylhydrolase activities in patients on peritoneal dialysis. *Peritoneal dialysis international* 2004 24(6):580-589.

145.Vaziri ND. Role of dyslipidemia in impairment of energy metabolism, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clinical and experimental nephrology* 2014;18(2):265-268.

146.Tsimihodimos V, Mitrogianni Z, Elisaf M. Dyslipidemia associated with chronic kidney disease. *The open cardiovascular medicine journal* 2011;5(1):41-48.

147.Jacobson SH, Egberg N, Hylander B, Lundahl J. Correlation between soluble markers of endothelial dysfunction in patients with renal failure. *Am J Nephrol*, 2002;22:42-47.

148.de Jong PE, Brenner BM. From secondary to primary prevention of progressive renal disease: the case for screening for albuminuria. *Kidney Int* 2004;66:2109-2118

149.de Zeeuw D. Albuminuria, just a marker for cardiovascular disease, or is it more?. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1883-1885

150.Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A. Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989;32:219-226

151.Gerstein HC, Mann JF, Pogue J, Dinneen SF, Halle JP, Hoogwerf B, et al. Prevalence and determinants of microalbuminuria in high-risk diabetic and nondiabetic patients in the heart outcomes prevention evaluation study. *Diabetes Care* 2000;23(2):B35-B39

152.Tapp RJ, Shaw JE, Zimmet PZ, Balkau B, Chadban SJ, Tonkin AM, et al. Albuminuria is evident in the early stages of diabetes onset: results from the Australian Diabetes, Obesity, and Lifestyle Study (AusDiab). *Am J Kidney Dis* 2004;44(5):792-798.

153.Wachtell K, Olsen MH, Dahlof B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Nieminen MS, et al. Microalbuminuria in hypertensive patients with electrocardiographic left ventricular hypertrophy: the LIFE study. *J Hypertens* 2002;20:405-412.

154. Romundstad S, Holmen J, Kvenild K, Aakervik O, Hallan H. Clinical relevance of microalbuminuria screening in self-reported non-diabetic/non-hypertensive persons identified in a large health screening--the Nord-Trondelag Health Study (HUNT), Norway. *Clin Nephrol* 2003;59:241-251.
155. Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, van Gilst WH, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ, et al. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002;106:1777-1782.
156. Jensen J, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S, Schroll M, Borch-Johnsen K. Arterial hypertension, microalbuminuria, and risk of ischemic heart disease. *Hypertension* 2000;35:898-903.
157. Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med* 1984;311:89-93.
158. Dinneen SF. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A systematic overview of the literature. *Archives of Internal Medicine* 1997;157:1413-1418.
159. Nannipieri M, Penno G, Rizzo L, Pucci L, Bandinelli S, Mattei P, et al. Transcapillary escape rate of albumin in type II diabetic patients. The relationship with microalbuminuria and hypertension. *Diabetes Care* 1997;20:1019-1026.
160. Jensen JS, Borch-Johnsen K, Jensen G, Feldt-Rasmussen B. Microalbuminuria reflects a generalized transvascular albumin leakiness in clinically healthy subjects. *Clin Sci* 1995;88(6):629-633.
161. Papaioannou GI, Seip RL, Grey NJ, Katten D, Taylor A, Inzucchi SE, et al. Brachial artery reactivity in asymptomatic patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria (from the Detection of Ischemia in Asymptomatic Diabetics-brachial artery reactivity study). *Am J Cardiol* 2004;94(3):294-299.

162. Ochodnický P. Vascular endothelial and myogenic function in renal disease: Focus on individual susceptibility to organ damage. [dissertation] Groningen 2006; 158.
[Internet]. 2006 [cited 2016 Jun 27]; Available from: [http://www.rug.nl/research/portal/publications/pub\(68a6e5fd-8560-487a-b25d-6736370f1fd3\).html](http://www.rug.nl/research/portal/publications/pub(68a6e5fd-8560-487a-b25d-6736370f1fd3).html)
163. Vazari ND, Paule P, Toohey J, Hung E, Alikhani S, Darwish R, et al. Acquired deficiency and urinary excretion of antithrombin III in nephrotic syndrome. *Arch Intern Med.* 1984;144:1802–1803.
164. Singhal R, Brimble KS. Thromboembolic complications in the nephrotic syndrome: pathophysiology and clinical management. *Thrombosis research* 2006;118(3):397-407.
165. Siddiqi FA, Tepler J, Fantini GA. Acquired protein S and antithrombin III deficiency caused by nephrotic syndrome: an unusual cause of graft thrombosis. *Journal of vascular surgery* 1997;25(3):576-580.
166. Thijs A, Nanayakkara PW, Ter Wee PM, Huijgens PC, Van Guldener C, Stehouwer CD. Mild-to-moderate renal impairment is associated with platelet activation: a cross-sectional study. *Clinical nephrology* 2008;70(4):325-331.
167. Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY, Newman DJ, Blann AD, McGlynn FJ, et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *American journal of kidney diseases* 2004;43(2):244-253.
168. Bonomini M, Dottori S, Amoroso L, Arduini A, Sirolli V. Increased platelet phosphatidylserine exposure and caspase activation in chronic uremia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004;2(8):1275-1281.
169. Faure V, Dou L, Sabatier F, Cerini C, Sampol J, Berland Y, et al. Elevation of circulating endothelial microparticles in patients with chronic renal failure. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; 4(3): 566-573.

- 170.Key NS. Analysis of tissue factor positive microparticles. *Thrombosis research* 2010; 125:42-45.
- 171.Camaioni C, Gustapane M, Cialdella P, Della Bona R, Biasucci LM. Microparticles and microRNAs: new players in the complex field of coagulation. *Internal and emergency medicine* 2013;8(4):291-296.
- 172.Landry P, Plante I, Ouellet DL, Perron MP, Rousseau G, Provost P. Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets. *Nature structural & molecular biology* 2009; 16(9):961-966.
- 173.Kondkar AA, Bray MS, Leal SM, Nagalla S, Liu DJ, Jin Y, et al. VAMP8/endobrevin is overexpressed in hyperreactive human platelets: suggested role for platelet microRNA. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010;8(2):369-378.
- 174.Plé H, Maltais M, Corduan A, Rousseau G, Madore F, Provost P. Alteration of the platelet transcriptome in chronic kidney disease. *Thrombosis and haemostasis* 2012; 108(4):605-615.
- 175.Molnar MZ, Streja E, Kovesdy CP, Budoff MJ, Nissenson AR, Krishnan M, et al. High platelet count as a link between renal cachexia and cardiovascular mortality in end-stage renal disease patients. *The American journal of clinical nutrition* 2011; 94(3):945-954.
- 176.Sokunbi DO, Wadhwa NK, Suh H. Vascular disease outcome and thrombocytosis in diabetic and nondiabetic end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Advances in peritoneal dialysis. Conference on Peritoneal Dialysis* 1993;10:77-80
- 177.Streja E, Kovesdy CP, Greenland S, Kopple JD, McAllister CJ, Nissenson AR, et al. Erythropoietin, iron depletion, and relative thrombocytosis: a possible explanation for hemoglobin-survival paradox in hemodialysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2008; 52(4):727-736.

- 178.Sirolli V, Ballone E, Garofalo D, Merciaro G, Settefrati N, Di Mascio R, et al. Platelet activation markers in patients with nephrotic syndrome. A comparative study of different platelet function tests. *Nephron*. 2002;91:424–430.
- 179.Boccardo P, Remuzzi G, Galbusera M. Platelet dysfunction in renal failure. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2004;30(05):579-589.
- 180.Hoffmann JJ. Reticulated platelets: analytical aspects and clinical utility. *Clin Chem Lab Med* 2014;52(8):1107-1117.
- 181.Leader A, Pereg D, Lishner M. Are platelet volume indices of clinical use? A multidisciplinary review. *Annals of medicine* 2012;44(8):805-816.
- 182.Schoorl M. Activation of platelets and coagulation during haemodialysis [dissertation] Amsterdam 2014; 176. [Internet]. 2014 May [cited 2016 Aug 2]; Available from: <http://dare.uva.nl/search?metis.record.id=417639>
- 183.Tanaka H, Umimoto K, Izumi N, Nishimoto K, Maekawa T, Kishimoto T, et al. Platelet life span in uraemia. *Proc Eur Dial Transplant Assoc Eur Ren Assoc* 1985;21:306–310.
- 184.Zwaginga J. Hemodialysis, erythropoietin and megakaryocytopoiesis: factors in uremic thrombocytopeny and thrombophilia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004;2(8):1272-1274.
- 185.Galbusera M, Remuzzi G, Boccardo P. Treatment of bleeding in dialysis patients. *Seminars in dialysis* 2009;22(3):279-286.
- 186.Elezović I. Urođene bolesti funkcije trombocita – trombocitopatije i urođene trombocitopenije. U: Mihaljević B. (eds) *Klinička hematologija*, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd 2012;921-926.
- 187.Zeck J, Schallheim J, Lew SQ, DePalma L. Whole blood platelet aggregation and release reaction testing in uremic patients. *BioMed research international*, Vol. 2013,

Article ID 486290. [Internet]. 2013 June [cited 2016 Aug 5]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/486290>

188.Kaw D, Malhotra D. Hematology: issues in the dialysis patient: platelet dysfunction and end-stage renal disease. *Seminars in dialysis* 2006;19(4):317-322.

189.Rao AK. Acquired disorders of platelet function. In: Michelson AD. *Platelets*. 3rd edition. Amsterdam: Academic Press, 2013.p.1049-1073.

190.Hedges SJ, Dehoney SB, Hooper JS, Amanzadeh J, Busti AJ. Evidence-based treatment recommendations for uremicbleeding. *Nat Clin Pract Nephrol* 2007;3(3): 138–153.

191.Palmer SC, Navaneethan SD, Craig JC, Johnson DW, Tonelli M, Garg AX, et al. Meta-analysis: erythropoiesis-stimulating agents in patients with chronic kidney disease. *Annals of internal medicine* 2010;153(1):23-33.

192.Pavord S, Myers B. Bleeding and thrombotic complications of kidney disease. *Blood reviews* 2011;25(6):271-278.

193.Matsuo T, Koide M, Kario K, Suzuki S, Matsuo M. Extrinsic coagulation factors and tissue factor pathway inhibitor in end-stage chronic renal failure. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis*, 1997;27(4):163-167.

194.Mercier E, Branger B, Vecina F, Al-Sabadani B, Berlan J, Dauzat M, et al. Tissue factor coagulation pathway and blood cells activation state in renal insufficiency. *The Hematology Journal* 2001;2(1):18-25.

195.Kario, K, Matsuo T, Yamada T, Matsuo M. Increased tissue factor pathway inhibitor levels in uremic patients on regular hemodialysis. *Thrombosis and haemostasis* 1994; 71(3):275-279.

196.Casserly LF, Dember LM. Thrombosis in End-Stage Renal Disease. *Seminars in dialysis* 2003;16(3):245-256.

- 197.Sjøland, JA, Sidelmann, JJ, Brabrand M, Pedersen RS, Pedersen JH, Esbensen K, et al. Fibrin clot structure in patients with end-stage renal disease. *Thrombosis and haemostasis* 2007;98(2):339-345.
- 198.Erdem Y, Haznedaroğlu IC, Celik I, Yalcin AU, Yasavul Ü, Turgan C, et al. Coagulation, fibrinolysis and fibrinolysis inhibitors in haemodialysis patients: contribution of arteriovenous fistula. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 1996; 11(7):1299-1305.
- 199.Eddy AA, Fogo AB. Plasminogen activator inhibitor-1 in chronic kidney disease: evidence and mechanisms of action. *Journal of the American Society of Nephrology* 2006; 17(11):2999-3012.
- 200.Goluša E, Grković Topalović M, Hudolin T, Konosić S, Bačak Kocman I, Perić M. Poremećaj hemostaze u bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem i nakon transplantacije bubrega. *Acta Medica Croatica* 2011;65(4):337-347.
- 201.Lau SO, Tkachuck JY, Hasegawa DK, Edson JR. Plasminogen and antithrombin III deficiencies in the childhood nephrotic syndrome associated with plasminogenuria and antithrombinuria. *The Journal of pediatrics* 1980;96(3):390-392.
- 202.Mitić G. Nasledna trombofilija i trombozne komplikacije u trudnoći. Doktorska disertacija. Novi Sad 2007.
- 203.Ocak G, Lijfering WM, Verduijn M, Dekker FW, Rosendaal FR, Cannegieter SC, et al. Risk of venous thrombosis in patients with chronic kidney disease: identification of high-risk groups. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2013; 11(4):627-633.
- 204.Bauer A, Limperger V, Nowak-Goettl U. End-stage renal disease and thrombophilia. *Hämostaseologie* 2016;36(2):103-107.
- 205.Van Es J, Eerenberg ES, Kamphuisen PW, Büller HR. How to prevent, treat, and overcome current clinical challenges of VTE. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2011;9(1):265-274.

206. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999;353:1167-1173.
207. Ghisdal L, Broeders N, Wissing KM, Mena JM, Lemy A, Wijns W, et al. Thrombophilic factors in Stage V chronic kidney disease patients are largely corrected by renal transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2011;2700-2705.
208. Morrissey PE, Ramirez PJ, Gohh RY, Yango AY, Kestin A, Madras PN, et al. Management of thrombophilia in renal transplant patients. *American Journal of Transplantation* 2002;2(9):872-876.
209. Knoll AG, Wellis SP, Young D, Perkins LS, Pilkey MR, Clinch JJ, et al. Thrombophilia and the Risk for Hemodialysis Vascular Access Thrombosis. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(4):1108-1114.
210. Andrassy J, Zeier M, Andrassy K. Do we need screening for thrombophilia prior to kidney transplantation?. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2004;19(4):64-68.
211. Patel RK, Arya R. Does IgA antibody against β 2 glycoprotein I increase cardiovascular risk in hemodialysis patients?. *Kidney international* 2012;81(12):1164-1166.
212. Joseph RE, Radhakrishnan J, Appel GB. Antiphospholipid antibody syndrome and renal disease. *Current opinion in nephrology and hypertension* 2001;10(2):175-181.
213. Uthman I, Khamashta M. Antiphospholipid syndrome and the kidneys. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2006;35(6):360-367.
214. Vaidya S, Sellers R, Kimball P, Shanahan T, Gitomer J, Gugliuzza K, et al. Frequency, potential risk and therapeutic intervention in end-stage renal disease patients with antiphospholipid antibody syndrome: a multicenter study. *Transplantation* 2000;69(7):1348-1352.

215. Garcia-Martin F, De Arriba G, Carrascosa T, Moldenhauer F, Martin-Escobar E, Val J, et al. Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant in end-stage renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1991;6(8):543-547.
216. Brunet P, Aillaud MF, San Marco M, Philip-Joet C, Dussol B, Bernard D, et al.. Antiphospholipids in hemodialysis patients: relationship between lupus anticoagulant and thrombosis. *Kidney international* 1995;48(3):794-800.
217. Valeri A, Joseph R, Radhakrishnan J. A large prospective survey of anti-cardiolipin antibodies in chronic hemodialysis patients. *Clinical nephrology* 1999;51(2):116-121.
218. Prakash R, Miller CC, Suki WN. Anticardiolipin antibody in patients on maintenance hemodialysis and its association with recurrent arteriovenous graft thrombosis. *American journal of kidney diseases* 1995;26(2):347-352.
219. Molino D, De Lucia D, Marotta R, Perna A, Lombardi C, Cirillo M, et al. In uremia, plasma levels of anti-protein C and anti-protein S antibodies are associated with thrombosis. *Kidney international* 2005;68(3):1223-1229.
220. Vaziri ND, Gonzales EC, Wang J, Said S. Blood coagulation, fibrinolytic, and inhibitory proteins in end-stage renal disease: effect of hemodialysis. *American journal of kidney diseases* 1994;23(6):828-835.
221. LeSar CJ, Merrick HW, Smith MR. Thrombotic complications resulting from hypercoagulable states in chronic hemodialysis vascular access. *Journal of the American College of Surgeons* 1999;189(1):73-79.
222. Nampoory MR, Das KC, Johny KV, Al-Hilali N, Abraham M, Easow S, et al. Hypercoagulability, a serious problem in patients with ESRD on maintenance hemodialysis, and its correction after kidney transplantation. *American journal of kidney diseases* 2003;42(4):797-805.

223. Kerlin BA, Ayoob R, Smoyer WE. Epidemiology and pathophysiology of nephrotic syndrome-associated thromboembolic disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2012;7(3):513-520.
224. Mahmoodi BK, ten Kate MK, Waanders F, Veeger NJ, Brouwer JLP, Vogt L, et al. . High absolute risks and predictors of venous and arterial thromboembolic events in patients with nephrotic syndrome results from a large retrospective cohort study. *Circulation* 2008;117(2):224-230.
225. Ismail G, Mircescu G, Ditoiu AV, Tacu BD, Jurubita R, Harza M. Risk factors for predicting venous thromboembolism in patients with nephrotic syndrome: focus on haemostasis-related parameters. *International urology and nephrology* 2014;46(4):787-792.
226. Ornaghi S, Barnhart KT, Frieling J, Streisand J, Paidas MJ. Clinical syndromes associated with acquired antithrombin deficiency via microvascular leakage and the related risk of thrombosis. *Thrombosis research* 2014;133(6):972-984.
227. Crowther MA, Kelton JG. Congenital thrombophilic states associated with venous thrombosis: a qualitative overview and proposed classification system. *Annals of Internal Medicine* 2003;138(2):128-134.
228. Hara T, Naito K. Inherited antithrombin deficiency and end stage renal disease. *Medical science monitor* 2005;11(11):346-354.
229. Bostom AG, Carpenter MA, Kusek JW, Levey AS, Hunsicker L, Pfeffer MA, et al. Homocysteine-lowering and cardiovascular disease outcomes in kidney transplant recipients primary results from the folic acid for vascular outcome reduction in transplantation trial. *Circulation* 2011;123(16):1763-1770.
230. Mirković D, Majkić-Singh N, Ignjatović S. Homocysteine: Chemistry, metabolism and roles in pathophysiology processes. *Jugoslovenska medicinska biohemija* 2003; 22(2):127-140.

- 231.Schafer AI. The primary and secondary hypercoagulable states. In Shafer AI. Molecular mechanisms of hypercoagulable states. Landes Bioscience, Chapman & Hall New York 1997;1-48.
- 232.Lentz SR. Mechanisms of homocystein-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005;3:1646-1654.
- 233.Perna AF, Ingrosso D, Satta E, Romano M, Cimmino A, Galletti P, et al. Metabolic consequences of hyperhomocysteinemia in uremia. *American journal of kidney diseases* 2001;38(4):85-90.
- 234.Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA, Murray L, McMaster D, McNulty H, et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. *Blood* 2003;101(7):2483-2488.
- 235.Tripathi G, Sankhwar SN, Sharma RK, Baburaj VP, Agrawal S. Role of thrombotic risk factors in end-stage renal disease. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2010;16(2):132-140.
- 236.Shemin D, Lapane KL, Bausserman L, Kanaan E, Kahn S, Dworkin L, et al. Plasma total homocysteine and hemodialysis access thrombosis a prospective study. *Journal of the American Society of Nephrology* 1999;10(5):1095-1099.
- 237.Mallamaci F, Bonanno G, Seminara G, Rapisarda F, Fatuzzo P, Candela V, et al. Hyperhomocysteinemia and arteriovenous fistula thrombosis in hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases* 2005;45(4):702-707.
- 238.Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Focà A, et al. Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. *Journal of hypertension* 2000;18(9):1207-1213.
- 239.Jamison RL, Hartigan P, Kaufman JS, Goldfarb DS, Warren SR, Guarino PD, et al. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic

kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *Jama* 2007;298(10):1163-1170.

240.Heidenreich S, Junker R, Wolters H, Lang D, Hessing S, Nitsche G, et al. Outcome of kidney transplantation in patients with inherited thrombophilia: data of a prospective study. *Journal of the American Society of Nephrology* 2003;14(1):234-239.

241.Liangos O, Kreutz R, Beige J, Offermann G, Distler A, Sharma AM. Methylenetetrahydrofolate-reductase gene C677T variant and kidney-transplant survival. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1998;13(9):2351-2354.

242.Wu CC, Zheng CM, Lin YF, Lo L, Liao MT, Lu KC. Role of homocysteine in end-stage renal disease. *Clinical biochemistry* 2012;45(16):1286-1294.

243.Bertina RM, Rosendaal FR. Venous thrombosis-the interaction of genes and environment. *New England Journal of Medicine* 1998;338(25):1840-1841.

244.Atac B, Yakupoğlu Ü, Özbek N, Özdemir FN, Bilgin N. Role of genetic mutations in vascular access thrombosis among hemodialysis patients waiting for renal transplantation. *Transplantation proceedings* 2002;34(6):2030-2032.

245.Tavil B, Bakkaloglu A, Gurgey A. Prothrombotic risk factors in patients with recurrent thrombosis of the arteriovenous fistula. *Dialysis & transplantation* 2006; 35(11):715-730.

246.Palder SB, Kirkman RL, Whittemore AD, Hakim RM, Lazarus JM, Tilney NL. Vascular access for hemodialysis. Patency rates and results of revision. *Annals of surgery* 1985 202(2):235-239.

247.Ravani P, Marcelli D, Malberti F. Vascular access surgery managed by renal physicians: the choice of native arteriovenous fistulas for hemodialysis. *American journal of kidney diseases* 2002;40(6):1264-1276.

248. National Kidney Foundation's KDOQI 2006 Vascular Access Guidelines. *Am J Kidney Disease* 2006;48(1):177–322.
249. Sidawy AN, Spergel LM, Besarab A, Allon M, Jennings WC, Padberg FT, et al. The Society for Vascular Surgery: clinical practice guidelines for the surgical placement and maintenance of arteriovenous hemodialysis access. *Journal of vascular surgery* 2008;48(5):2-25.
250. Feldman HI, Kobrin S, Wasserstein A. Hemodialysis vascular access morbidity. *Journal of the American Society of Nephrology* 1996;7(4):523-535.
251. Hakim RM, Himmelfarb J. Hemodialysis access failure: a call to action-revisited. *Kidney international* 2009;76(10):1040-1048.
252. Allon M, Lok CE. Dialysis fistula or graft: the role for randomized clinical trials. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2010;5(12):2348-2354.
253. Pisoni RL, Zepel L, Port FK, Robinson BM. Trends in US vascular access use, patient preferences, and related practices: an update from the US DOPPS practice monitor with international comparisons. *American Journal of Kidney Diseases* 2015; 65(6):905-915.
254. Nonnast-Daniel B, Lindert O, Mügge A, Schaeffer J, Koch KM, Daniel WG, et al. Colour Doppler ultrasound assessment of arteriovenous haemodialysis fistulas. *The Lancet* 1992;339(8786):143-145.
255. Allon M, Robbin ML. Increasing arteriovenous fistulas in hemodialysis patients: problems and solutions. *Kidney international* 2002;62(4):1109-1124.
256. Conte MS, Nugent HM, Gaccione P, Guleria I, Roy-Chaudhury P, Lawson JH. Multicenter phase I/II trial of the safety of allogeneic endothelial cell implants after the creation of arteriovenous access for hemodialysis use: the V-HEALTH study. *Journal of vascular surgery* 2009;50(6):1359-1368.

- 257.Konner K, Nonnast-Daniel B, Ritz E. The arteriovenous fistula. *Journal of the American Society of Nephrology* 2003;14(6):1669-1680.
- 258.Roy-Chaudhury R, Spergel LM, Besarab A, Asif A, Ravani P. Biology of arteriovenous fistula failure. *Journal of nephrology* 2007;20:150-163.
- 259.Roy-Chaudhury P, Sukhatme VP, Cheung AK. Hemodialysis vascular access dysfunction: a cellular and molecular viewpoint. *Journal of the American Society of Nephrology* 2006;17(4):1112-1127.
- 260.Lee T, Roy-Chaudhury P. Advances and new frontiers in the pathophysiology of venous neointimal hyperplasia and dialysis access stenosis. *Advances in chronic kidney disease* 2009;16(5):329-338.
- 261.National Kidney Foundation: KDOQI. Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for vascular access. *Am J Kidney Dis.* 2006;48:S176- S247.
- 262.Roy-Chaudhury P, Arend L, Zhang J, Krishnamoorthy M, Wang Y, Banerjee R, et al. Neointimal hyperplasia in early arteriovenous fistula failure. *American Journal of Kidney Diseases* 2007;50(5):782-790.
- 263.Swedberg SH, Brown BG, Sigley R, Wight TN, Gordon D, Nicholls SC. Intimal fibromuscular hyperplasia at the venous anastomosis of PTFE grafts in hemodialysis patients. *Circulation* 1989;80:1726-1736.
- 264.Lee T. Novel paradigms for dialysis vascular access: downstream vascular biology—is there a final common pathway?. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2013;8(12):2194-2201.
- 265.Remuzzi A, Ene-Iordache B. Novel paradigms for dialysis vascular access: upstream hemodynamics and vascular remodeling in dialysis access stenosis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2013;8(12):2186-2193.

266. Traub O, Berk BC. Laminar shear stress mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1998;18(5):677-685.
267. Forsten KE, Courant NA, Nugent MA. Endothelial proteoglycans inhibit bFGF binding and mitogenesis. *J Cell Physiol* 1997;172(2):209–220.
268. Dinbergs ID, Brown L, Edelman ER. Cellular response to transforming growth factor- β 1 and basic fibroblast growth factor depends on release kinetics and extracellular matrix interactions. *Journal of Biological Chemistry* 1996;271(47): 29822-29829.
269. Borrelli V, di Marzo L, Sapienza P, Colasanti M, Moroni E, Cavallaro A. Role of platelet-derived growth factor and transforming growth factor β 1 in the regulation of metalloproteinase expressions. *Surgery* 2006;140(3):454-463.
270. Dreisbach AW, Lertora JJ. The effect of chronic renal failure on hepatic drug metabolism and drug disposition. *Seminars in dialysis* 2003;16(1):45-50.
271. Dreisbach AW, Lertora JJ. The effect of chronic renal failure on drug metabolism and transport. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology* 2008;4(8):1065-1074.
272. Yeung CK, Shen DD, Thummel KE, Himmelfarb J. Effects of chronic kidney disease and uremia on hepatic drug metabolism and transport. *Kidney international* 2014;85(3):522-528.
273. Naud J, Nolin TD, Leblond FA, Pichette V. Current understanding of drug disposition in kidney disease. *The Journal of Clinical Pharmacology* 2012;52(1):10-22.
274. Olyaei AJ, Steffl JL. A quantitative approach to drug dosing in chronic kidney disease. *Blood purification* 2011;31(1-3):138-145.
275. Lalande L, Charpiat B, Leboucher G, Tod M. Consequences of renal failure on non-renal clearance of drugs. *Clinical pharmacokinetics* 2014;53(6):521-532.

- 276.Hirsh J, Raschke R. Heparin and Low-Molecular-weight heparin. The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. CHEST 2004; 126/3(Suppl): 188-203.
- 277.Limdi NA, Limdi MA, Cavallari L, Anderson AM, Crowley MR, Baird MF, et al. Warfarin dosing in patients with impaired kidney function. American Journal of Kidney Diseases 2010;56(5):823-831.
- 278.Kleinow ME, Garwood CL, Clement JL, Whittaker P. Effect of chronic kidney disease on warfarin management in a pharmacist-managed anticoagulation clinic. Journal of Managed Care Pharmacy 2011;17(7):523-530.
- 279.Dreisbach AW, Japa S, Gebrekal AB, Mowry SE, Lertora JJ, Kamath BL, et al: Cytochrome P4502C9 activity in end-stage renal disease. Clin Pharmacol Ther 2003;73: 475-477.
- 280.Ireland R. Warfarin bleeding risk increased in CKD. J Am Soc Nephrol 2009;20:912-921.
- 281.Brodsky SV, Nadasdy T, Rovin BH, Satoskar AA, Nadasdy GM, Wu HM, et al. Warfarin-related nephropathy occurs in patients with and without chronic kidney disease and is associated with an increased mortality rate. Kidney international 2011;80(2):181-189.
- 282.Di Maso, V, Carraro M, Bevilacqua E, Bucconi S, Artero ML, Boscutti, G. Warfarin-related nephropathy: possible role for the warfarin pharmacogenetic profile. Clinical kidney journal 2014;7(6):605-608.
- 283.Rizk DV, Warnock DG. Warfarin-related nephropathy: another newly recognized complication of an old drug. Kidney international 2011;80(2):131-133.
- 284.Westenfeld R, Krueger T, Schlieper G, Cranenburg EC, Magdeleyns EJ, Heidenreich S, et al. Effect of vitamin K 2 supplementation on functional vitamin K deficiency in

hemodialysis patients: a randomized trial. *American Journal of Kidney Diseases* 2012; 59(2):186-195.

285. Cozzolino M, Brandenburg V. Warfarin: to use or not to use in chronic kidney disease patients. *J Nephrol* 2010;23(06):648-652.

286. Thorevska N, Amoateng-Adjepong Y, Sabahi R, Schiopescu I, Salloum A, Muralidharan V, et al. Anticoagulation in hospitalized patients with renal insufficiency: a comparison of bleeding rates with unfractionated heparin vs enoxaparin. *Chest Journal* 2004;125(3):856-863.

287. Grand'Maison A, Charest AF, Geerts WH. Anticoagulant use in patients with chronic renal impairment. *American journal of cardiovascular drugs* 2005;5(5):291-305.

288. Horne MDK, Chad ES. The effect of molecular weight on heparin binding to platelets. *Br J Haematol* 1990;74:306-312.

289. Lobo BL. Use of newer anticoagulants in patients with chronic kidney disease. *American Journal of Health-System Pharmacy* 2007;64(19):2017-2026.

290. Schmid P, Fischer AG, Wuillemin WA. Low-molecular-weight heparin in patients with renal insufficiency. *Swiss Med Wkly* 2009;139(31-32):438-452.

291. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JI, Samama MM. Parenteral anticoagulants: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *CHEST* 2012;141/2(Suppl): 24-43.

292. Nagler M, Haslauer M, Wuillemin WA. Fondaparinux—data on efficacy and safety in special situations. *Thrombosis research* 2012;129(4):407-417.

293. Linkins LA, Dans AL, Moores LK, Bona R, Davidson BL, Schulman S, et al. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *CHEST Journal* 2012;141(2suppl):495-530.

294. Wellborn-Kim JJ, Mitchell GA, Terneus Jr WF, Stowe CL, Malias MA, Sparkman G M, et al. Fondaparinux therapy in a hemodialysis patient with heparin-induced thrombocytopenia type II. *American Journal of Health-System Pharmacy* 2010;67(13): 1075-1079.
295. Fiaccadori E, Maggiore U, Regolisti G. Balancing thromboembolic risk against vitamin K antagonist-related bleeding and accelerated calcification: is fondaparinux the Holy Grail for end-stage renal disease patients with atrial fibrillation?. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2013;28:2923-2928.
296. Hester W, Fry C, Gonzalez D, Cohen-Wolkowicz M, Inman BA, Ortel TL. Thromboprophylaxis with fondaparinux in high-risk postoperative patients with renal insufficiency. *Thrombosis research* 2014;133(4):629-633.
297. Ageno W, Riva N, Noris P, Di Nisio M, La Regina M, Arioli D, et al. Safety and efficacy of low-dose fondaparinux (1.5 mg) for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients with renal impairment: the FONDAIR study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012;10(11):2291-2297.
298. Harder S. Renal profiles of anticoagulants. *The Journal of Clinical Pharmacology* 2012;52(7):964-975.
299. Apostolakis S, Lane DA, Guo Y, Buller H, Lip GY. Performance of the HEMORR2HAGES, ATRIA, and HAS-BLED bleeding risk-prediction scores in patients with atrial fibrillation undergoing anticoagulation: the AMADEUS (Evaluating the Use of SR34006 Compared to Warfarin or Acenocoumarol in Patients With Atrial Fibrillation) Study. *Journal of the American College of Cardiology* 2012;60(9):861-867.
300. Harel Z, Sholzberg M, Shah PS, Pavenski K, Harel S, Wald R, et al. Comparisons between novel oral anticoagulants and vitamin K antagonists in patients with CKD. *Journal of the American Society of Nephrology* 2014;25(3):431-442.

- 301.Greinacher A, Thiele T, Selleng K. Reversal of anticoagulants: an overview of current developments. *Thromb Haemost.* 2015;113(5):931–42.
- 302.Lee CJ, Ansell JE. Direct thrombin inhibitors. *British journal of clinical pharmacology* 2011;72(4):581-592.
- 303.Yeh CH, Fredenburgh JC, Weitz JI. Oral direct factor Xa inhibitors. *Circulation research* 2012;111(8):1069-1078.
- 304.Capodanno D, Angiolillo DJ. Antithrombotic therapy in patients with chronic kidney disease. *Circulation* 2012;125(21):2649-2661.
- 305.Olesen JB, Lip G, Kamper AL, Hommel K, Køber L, Lane DA, et al. C. Stroke and bleeding in atrial fibrillation with chronic kidney disease. *New England Journal of Medicine* 2012;367(7):625-635.
- 306.Herzog CA, Asinger RW, Berger AK, Charytan DM, Díez J, Hart RG, et al. Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney international* 2011;80(6):572-586.
- 307.Palmer SC, Di Micco L, Razavian M, Craig JC, Perkovic V, Pellegrini F, et all. Antiplatelet agents for chronic kidney disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 2. Art. No.: CD008834. DOI: 10.1002/14651858. CD008834. pub2. [Internet]. 2013 February [cited 2016 Sept 20]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD008834.pub2>
- 308.Palmer SC, Di Micco L, Razavian M, Craig JC, Perkovic V, Pellegrini F, et all. Effects of antiplatelet therapy on mortality and cardiovascular and bleeding outcomes in persons with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine* 2012;156(6):445-459.
- 309.K/DOQI workgroup: K/DOQI clinical practice guidelines for cardiovascular disease in dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2005;45(4)(suppl 3):S1-S153.

310. Azar RR, Prpic R, Ho KK, Kiernan FJ, Shubrooks SJ, Baim DS, et al. Impact of end-stage renal disease on clinical and angiographic outcomes after coronary stenting. *The American journal of cardiology* 2000;86(5):485-489.
311. Watson PS, Hadjipetrou P, Cox SV, Piemonte TC, Eisenhauer AC. Effect of renal artery stenting on renal function and size in patients with atherosclerotic renovascular disease. *Circulation* 2000;102(14):1671-1677.
312. Yevzlin AS, Conley EL, Sanchez RJ, Young HN, Becker BN. Vascular access outcomes and medication use: a USRDS study. *Seminars in dialysis* 2006;19(6): 535-539.
313. Keltai M, Tonelli M, Mann JFE, Sitkei E, Lewis BS, Hawken S, et al. Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events (CURE) trial investigators. Renal function and outcomes in acute coronary syndrome: impact of clopidogrel. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 2007; 14(2):312-318.
314. Dasgupta A, Steinhubl SR, Bhatt DL, Berger PB, Shao M, Mak KH, et al. Clinical outcomes of patients with diabetic nephropathy randomized to clopidogrel plus aspirin versus aspirin alone (a post hoc analysis of the clopidogrel for high atherothrombotic risk and ischemic stabilization, management, and avoidance [CHARISMA] trial). *The American journal of cardiology* 2009;103(10):1359-1363.
315. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *New England Journal of Medicine* 2007;357(20):2001-2015.
316. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=9871419 [Internet]. 2006 Oct [cited 2016. Sept 25]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9871419>
317. Montalescot G, Silvain J. Ticagrelor in the renal dysfunction subgroup: subjugated or substantiated?. *Circulation* 2010;122(11):1049-1052.

318. Anderson JR, Riding D. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients with renal insufficiency undergoing percutaneous coronary intervention. *Cardiology in review* 2008; 16(4):213-218.
319. Stangl PA, Lewis S. Review of currently available GP IIb/IIIa inhibitors and their role in peripheral vascular interventions. *Seminars in interventional radiology* 2010;27(04): 412-421.
320. Gamboa A, Abraham R, Diedrich A, Shibao C, Paranjape SY, Farley G, et al. Role of adenosine and nitric oxide on the mechanisms of action of dipyridamole. *Stroke* 2005; 36(10):2170-2175.
321. Gibbs CR, Lip GY. Do we still need dipyridamole?. *British journal of clinical pharmacology* 1998;45(4):323-328.
322. Balakumar P, Nyo YH, Renushia R, Raaginey D, Oh AN, Varatharajan R, et al. Classical and pleiotropic actions of dipyridamole: not enough light to illuminate the dark tunnel?. *Pharmacological research* 2014;87:144-150.
323. Polkinghorne K. Pharmacological approaches to preventing vascular access failure. *Nephrology* 2008;13(2):12-16.
324. Lee T, Mokrzycki M, Moist L, Maya I, Vazquez M, Lok CE. Standardized definitions for hemodialysis vascular access. *Seminars in dialysis* 2011;24(5):515-524.
325. Vachharajani TJ. Diagnosis of arteriovenous fistula dysfunction. *Seminars in dialysis* 2012;25(4):445-450.
326. Malovrh M. Postoperative assessment of vascular access. *J Vasc Access* 2014;15(7): 10-14.
327. Malovrh M. Interventional Nephrology and Dialysis: The Role of Sonography in the Planning of Arteriovenous Fistulas for Hemodialysis. *Seminars in dialysis* 2003;16 (4):299-303.

328. Kim SM, Han Y, Kwon H, Hong HS, Choi JY, Park H, et al. Impact of a preoperative evaluation on the outcomes of an arteriovenous fistula. *Annals of surgical treatment and research* 2016;90(4):224-230.
329. James PT. Obesity: the worldwide epidemic. *Clinics in dermatology* 2004;22(4): 276-280.
330. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Annals of internal medicine* 1999;130(6):461-470.
331. Devreese KMJ, Pierangeli SS, Laat B, Tripodi A, Atsumi T, Ortel TL. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2014;12(5):792-795.
332. Giles TD, Materson BJ, Cohn JN, Kostis JB. Definition and classification of hypertension: an update. *The Journal of Clinical Hypertension* 2009;11(11):611-614.
333. Simundic AM. Practical recommendations for statistical analysis and data presentation in *Biochemia Medica* journal. *Biochem Med* 2012;22:15-23.
334. McHugh ML. The chi-square test independence. *Biochemia Medica* 2013;23(2):143-149
335. McHugh ML. The odds ratio: calculation, usage, and interpretation. *Biochemia Medica* 2009;19(2):120-126.
336. National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guideline for hemodialysis adequacy: 2015 update. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(5):884-930.
337. Konner K, Lomonte C, Basile C. Placing a primary arteriovenous fistula that works- more or less known aspects, new ideas. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2013;28: 781-784.

- 338.Santoro D, Benedetto F, Mondello P, Pipitò N, Barillà D, Spinelli F, et al. Vascular access for hemodialysis: current perspectives. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2014;7(1):281-294.
- 339.Astor BC, Eustace JA, Powe NR, Klag MJ, Fink NE, Coresh J. Type of vascular access and survival among incident hemodialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for ESRD (CHOICE) Study. *Journal of the American Society of Nephrology* 2005;16(5):1449-1455.
- 340.Asif A, Roy-Chaudhury P, Beathard GA. Early arteriovenous fistula failure: a logical proposal for when and how to intervene. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2006;1(2):332-339.
- 341.Dember LM, Beck GJ, Allon M, Delmez JA, Dixon BS, Greenberg A, et al. Effect of clopidogrel on early failure of arteriovenous fistulas for hemodialysis: a randomized controlled trial. *Jama* 2008;299(18):2164-2171.
- 342.Dixon BS. Why don't fistulas mature?. *Kidney international* 2006;70(8):1413-1422.
- 343.Farber A, Imrey PB, Huber TS, Kaufman JM, Kraiss LW, Larive B, et al. . Multiple preoperative and intraoperative factors predict early fistula thrombosis in the Hemodialysis Fistula Maturation Study. *Journal of vascular surgery* 2016;63(1):163-170.
- 344.Pasternak J. Značaj kontinuiranog praćenja protoka arteriovenskih fistula za hemodijalizu. Doktorska disertacija. Novi Sad 2008.
- 345.ERA-EDTA Registry: ERA-EDTA Registry Annual Report 2014. Academic Medical Center, Department of Medical Informatics, Amsterdam, the Netherlands, 2016. ISBN 978-90-817480-7-0. [Internet]. [cited 2016 Oct 8]; Available from: <https://www.era-edta-reg.org/files/annualreports/pdf/AnnRep2014.pdf>

346. Peterson WJ, Barker J, Allon M. Disparities in fistula maturation persist despite preoperative vascular mapping. *Clinical journal of the American Society of Nephrology* 2008;3(2):437-441.
347. Rodriguez JA, Armadans L, Ferrer E, Olmos A, Codina S, Bartolomé J, et al. The function of permanent vascular access. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2000;15(3):402-408.
348. Lok CE, Oliver MJ, Su J, Bhola C, Hannigan N, Jassal SV. Arteriovenous fistula outcomes in the era of the elderly dialysis population. *Kidney international* 2005;67(6):2462-2469.
349. Conte MS, Nugent HM, Gaccione P, Roy-Chaudhury P, Lawson JH. Influence of diabetes and perivascular allogeneic endothelial cell implants on arteriovenous fistula remodeling. *Journal of vascular surgery* 2011;54(5):1383-1389.
350. Allon M, Litovsky S, Young CJ, Deierhoi MH, Goodman J, Hanaway M, et al. Medial fibrosis, vascular calcification, intimal hyperplasia, and arteriovenous fistula maturation. *American Journal of Kidney Diseases* 2011;58(3):437-443.
351. Schild AF, Prieto J, Glenn M, Livingstone J, Alfieri K, Raines, J. Maturation and failure rates in a large series of arteriovenous dialysis access fistulas. *Vascular and endovascular surgery* 2004;38(5):449-453.
352. Irvin J, Oldman N, Sedgwick P, Chemla E. Do blood pressure levels and other patient characteristics influence native fistula patency?. *Seminars in dialysis* 2014;27(3):27-31.
353. Chan MR, Young HN, Becker YT, Yevzlin AS. Obesity as a predictor of vascular access outcomes: analysis of the USRDS DMMS Wave II study. *Seminars in dialysis* 2008;21(3):274-279.

- 354.Saran R, Dykstra DM, Wolfe RA, Gillespie B, Held PJ, Young EW. Association between vascular access failure and the use of specific drugs: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* 2002;40(6):1255-1263.
- 355.Jackson RS, Sidawy AN, Amdur RL, Khetarpal A, Macsata RA. Angiotensin receptor blockers and antiplatelet agents are associated with improved primary patency after arteriovenous hemodialysis access placement. *J Vasc Surg* 2011;54(6):1706-1712.
- 356.Chen FA, Chien CC, Chen YW, Wu YT, Lin CC. Angiotensin converting-enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, and calcium channel blockers are associated with prolonged vascular access patency in uremic patients undergoing hemodialysis. *PLOS ONE* 2016; 11(11), e0166362. [Internet]. 2016 November [cited 2016 Oct 23]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119958>
- 357.Paraskevas KI, Mikhailidis DP, Roussas N, Giannoukas AD. Effect of antiplatelet agents, statins, and other drugs on vascular access patency rates. *Angiology* 2012;63(1):5-8.
- 358.Wattanakit K, Cushman M, Stehman-Breen C, Heckbert SR, Folsom AR. Chronic kidney disease increases risk for venous thromboembolism. *Journal of the American society of Nephrology* 2008;19(1):135-140.
- 359.Shashar M, Francis J, Chitalia V. Thrombosis in the Uremic Milieu-Emerging Role of “Thrombolome”. *Seminars in dialysis* 2015;28(2):198-205.
- 360.Ando M, Iwamoto Y, Suda A, Tsuchiya K, Nihei H. New insights into the thrombopoietic status of patients on dialysis through the evaluation of megakaryocytopoiesis in bone marrow and of endogenous thrombopoietin levels. *Blood* 2001;97(4):915-921.
- 361.Forbes SH, Ashman N, Yaqoob MM. The role of platelets in the prognosis of renal disease. *OA Nephrology* 2013;1(2):17.

- 362.Thijs A, Nanayakkara PW, Ter Wee PM, Huijgens PC, van Guldener C, Stehouwer CD. Mild-to-moderate renal impairment is associated with platelet activation: a crosssectional study. *Clin Nephrol* 2008;70(4):325–331.
- 363.Mina A, Favalaro EJ, Koutts J. Relationship between short activated partial thromboplastin times, thrombin generation, procoagulant factors and procoagulant phospholipid activity. *Blood Coagulation & Fibrinolysis* 2012;23(3):203-207.
- 364.Rabelink TJ, Zwaginga JJ, Koomans HA, Sixma JJ. Thrombosis and hemostasis in renal disease. *Kidney international* 1994;46(2):287-296.
- 365.Molino D, De Lucia D, De Santo NG. Coagulation disorders in uremia. *Seminars in nephrology* 2006;26(1):46-51.
- 366.Smits JH, van der Linden J, Blankestijn PJ, Rabelink TJ. Coagulation and haemodialysis access thrombosis. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2000;15(11):1755-1760.
- 367.Erdem Y, Haznedaroğlu IC, Celik I, Yalcin AU, Yasavul Ü, Turgan C, et al. Coagulation, fibrinolysis and fibrinolysis inhibitors in haemodialysis patients: contribution of arteriovenous fistula. *Nephrology Dialysis Transplantation* 1996; 11(7):1299-1305.
- 368.Rosendaal FR. Risk factors for venous thrombosis: prevalence, risk, and interaction. *Seminars in hematology* 1997;3:171-187.
- 369.Nežić D, Milojević P, Knežević A, Čirković M, Laušević-Vuk Lj, Jović M, et al. Hirurška revaskularizacija miokarda. *Acta chirurgica iugoslavica* 2003;50(2):87-98.
- 370.Gröntoft KC, Larsson R, Mulec H, Weiss LG, Dickinson JP. Effects of ticlopidine in AV-fistula surgery in uremia. *Scandinavian journal of urology and nephrology* 1998; 32(4):276-283.

- 371.Chang CJ, Ko YS, Ko PJ, Hsu LA, Chen CF, Yang CW, et al. Thrombosed arteriovenous fistula for hemodialysis access is characterized by marked inflammatory acitivity. *Kidney International* 2005;68:1312-1319.
- 372.Đorđević V, Rakićević Lj, Miković D, Kovač M, Miljić P, Radojković P, et al. Prevalence of factor V Leiden, factor V Cambridge, factor II G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations in healthy and thrombophilic Serbian populations. *Acta Haematol* 2004;112:227-229.
- 373.Danis R, Ozmen S, Akin D, Batun S, Kahvecioglu S, Altintas A, et al. Thrombophilias and arteriovenous fistula dysfunction in maintenance hemodialysis. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2009;27(3):307-315.
- 374.LeSar CJ, Merrick HW, Smith MR. Thrombotic complications resulting from hypercoagulable states in chronic hemodialysis vascular access. *Journal of the American College of Surgeons* 1999;189(1):73-77.
- 375.De Marchi S, Falleti E, Giacomello R, Stel G, Cecchin E, Sepiacci G, et al. Risk factors for vascular disease and arteriovenous fistula dysfunction in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology* 1996;7(8):1169-1177.
- 376.Turkmen K, Erdur FM, Ozcicek F, Ozcicek A, Akbas EM, Ozbicer A, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio better predicts inflammation than neutrophil-to-lymphocyte ratio in end-stage renal disease patients. *Hemodialysis International* 2013;17(3):391-396.
- 377.Klamroth R, Orlovic M, Fritsche I, Seibt S, Seibt F, Wegscheider K, et al.. The influence of thrombophilic risk factors on vascular access survival in chronic dialysis patients in a retrospective evaluation. *Vasa* 2013;42(1):32-39.
- 378.Fernandez-Abreu MC, Diez-Ewald M, Briceno S, Torres-Guerra E, Rodriguez Z, Fernandez N. Frequency and clinical implications of lupus anticoagulant in patients with terminal chronic renal failure in hemodialysis. *Investigacion clinica* 2007; 48(1):69-79.

- 379.Girndt M, Heine GH, Ulrich C, Köhler H. Gene polymorphism association studies in dialysis: vascular access. *Seminars in dialysis* 2007;20(1):63-67.
- 380.Fekih-Mrissa N, Klai S, Bafoun A, Nciri B, Hmida J, Gritli N. Role of thrombophilia in vascular access thrombosis among chronic hemodialysis patients in Tunisia. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2011;15(1):40-43.
- 381.Salmela B, Hartman J, Peltonen S, Albäck A, Lassila R. Thrombophilia and arteriovenous fistula survival in ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:962-968.
- 382.Al-Jaishi AA, Oliver MJ, Thomas SM, Lok CE, Zhang JC, Garg AX, et al. Patency rates of the arteriovenous fistula for hemodialysis: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2014;63(3):464-478.
- 383.Polkinghorne KR. Arteriovenous fistula patency: some answers but questions remain. *American Journal of Kidney Diseases* 2014;63(3):384-386.
- 384.Ghorbani A, Jasemi-Zergani F. Ticlopidine to prevent primary arteriovenous fistula failure in hemodialysis patients; a randomized controlled trial. *J Renal Inj Prev* 2013; 2(3):109-111.
- 385.Tordoir JH, Rooyens P, Dammers R, van der Sande FM, de Haan M, Yo TI. Prospective evaluation of failure modes in autogenous radiocephalic wrist access for haemodialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2003;18(2):378-383.
- 386.Kaufman JS. Antithrombotic agents and the prevention of access thrombosis. In *Seminars in dialysis* 2000;13(1):40-46.
- 387.Fiskerstrand CE, Thompson IW, Burnet ME, Williams P, Anderton JL. Double-Blind Randomized Trial of the Effect of Ticlopidine in Arteriovenous Fistulas for Hemodialysis. *Artificial organs* 1985;9(1):61-63.

388. Grontoft KC, Mulec H, Gutierrez A, Olander R. Thromboprophylactic effect of ticlopidine in arteriovenous fistulas for haemodialysis. *Scandinavian journal of urology and nephrology* 1985;19(1):55-57.
389. Choudhury D. Vascular access thrombosis prophylaxis. *Seminars in Dialysis* 2006; 19(4):335-342.
390. Dembinska-Kiec A, Virgolini I, Rauscha F, Sinzinger H. Ticlopidine and platelet function in healthy volunteers. *Thrombosis research* 1992;65(4):559-570.
391. Cazenave JP, Gachet C. 9 Anti-platelet drugs: do they affect megakaryocytes?. *Baillière's clinical haematology* 1997;10(1):163-180.
392. Hakim R, Himmelfarb J. Hemodialysis access failure: a call to action. *Kidney international* 1998;54(4):1029-1040.
393. Atiq F, van den Bemt PM, Leebeek FW, van Gelder T, Versmissen J. A systematic review on the accumulation of prophylactic dosages of low-molecular-weight heparins (LMWHs) in patients with renal insufficiency. *European journal of clinical pharmacology* 2015;71(8):921-929.
394. O'Shea SI, Lawson JH, Reddan D, Murphy M, Ortel TL. Hypercoagulable states and antithrombotic strategies in recurrent vascular access site thrombosis. *Journal of vascular surgery* 2003;38(3):541-548.
395. Sharathkumar A, Hirschl R, Pipe S, Crandell C, Adams B, Lin JJ. Primary thromboprophylaxis with heparins for arteriovenous fistula failure in pediatric patients. *The journal of vascular access* 2006;8(4):235-244.
396. Yogi N, Baxi M, Baxi J, Acharya GB, Hazra NK. Effect of anticoagulant and antiplatelet agents on outcome of AV Fistula made for hemodialysis access. *Nepal Journal of Medical Sciences* 2012;1(2):93-96.

- 397.Xing F, Jun P, Xingfeng R, Tianbiao L. Preventive effects of low molecular weight heparins calcium on early thrombosis in the patients with arteriovenous fistula [Abstract]. *China Pharmacist* 2013;7:040.
- 398.Page C. Heparin and related drugs: Beyond anticoagulant activity. *ISRN pharmacology*, vol. 2013, Article ID 910743 [Internet]. 2013 March [cited 2016 Nov 2]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/910743>
- 399.Wing AJ, Curtis JR, De Wardener HE. Reduction of clotting in Scribner shunts by long-term anticoagulation. *British medical journal* 1967;3(5558):143-145.
- 400.Silva AF, Escofet X, Rutherford PA. Medical adjuvant treatment to increase patency of arteriovenous fistulae and grafts. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2002, Issue 3. Art. No.: CD002786. DOI: 10.1002/14651858.CD002786. [Internet]. 2002 July [cited 2016 Nov 3]; Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD002786/abstract>
- 401.Osborn G, Escofet X, Da Silva A. Medical adjuvant treatment to increase patency of arteriovenous fistulae and grafts. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2008, Issue 4. Art. No.: CD002786. DOI: 10.1002/14651858.CD002786.pub2. [Internet]. 2008 October [cited 2016 Nov 3]; Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD002786.pub2/abstract>
- 402.Coleman CI, Tuttle LA, Teevan C, Baker WL, White CM, Reinhart KM. Antiplatelet agents for the prevention of arteriovenous fistula and graft thrombosis: a meta analysis. *International journal of clinical practice* 2010;64(9):1239-1244.
- 403.Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, et al. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. *New England Journal of Medicine* 2003;348(15):1435-1441.

404. Andrei MC, Andercou A. Is there a link between atherothrombosis and deep venous thrombosis?. *Maedica* 2014;9(1):94-97.
405. Feldman HI, Joffe M, Rosas SE, Burns JE, Knauss J, Brayman K. Predictors of successful arteriovenous fistula maturation. *American journal of Kidney diseases* 2003; 42(5):1000-1012.
406. Vazquez-Padron RI, Allon M. New insights into dialysis vascular access: Impact of preexisting arterial and venous pathology on AVF and AVG outcomes. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2016;11(8):1495-1503.
407. Chou CY, Kuo HL, Yung YF, Liu YL, Huang CC. C-reactive protein predicts vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Blood purification* 2006;24(4): 342-346.
408. Lutz J, Menke J, Sollinger D, Schinzel H, Thürmel K. Haemostasis in chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2014;29(1):29-40.
409. Morton SK, Rodríguez AJ, Morris DR, Bhandari AP, Moxon JV, Golledge J. A systematic review and meta-analysis of circulating biomarkers associated with failure of arteriovenous fistulae for haemodialysis. *PLOS ONE*, 11(7), e0159963. [Internet]. 2016 July [cited 2016 Nov 12]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0159963>
410. Bashar K, Zafar A, Elsheikh S, Healy DA, Clarke-Moloney M, Casserly L, et al. Predictive parameters of arteriovenous fistula functional maturation in a population of patients with end-stage renal disease. *PLOS ONE*, 10(3), e0119958. [Internet]. 2015 March [cited 2016 Nov 12]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119958>
411. Saran R, Elder SJ, Goodkin DA, Akiba T, Ethier J, Rayner HC, et al. Enhanced training in vascular access creation predicts arteriovenous fistula placement and patency in hemodialysis patients: results from the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Annals of surgery* 2008;(5):885-891.

412. Wallentin L. P2Y12 inhibitors: differences in properties and mechanisms of action and potential consequences for clinical use. *European heart journal* 2009;30(16): 1964-1977.
413. Palmer SC, Di Micco L, Razavian M, Craig JC, Ravani P, Perkovic V, et al. Antiplatelet therapy to prevent hemodialysis vascular access failure: systematic review and meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2013;61(1):112-122.
414. Barradell LB, Buckley MM. Nadroparin calcium. A review of its pharmacology and clinical applications in the prevention and treatment of thromboembolic disorders. *Drugs* 1992;44(5):858-888.
415. Montagnana M, Meschi T, Borghi L, Lippi G. Thrombosis and occlusion of vascular access in hemodialyzed patients. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2011;37(08): 946-954.