

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Edvin B. Hadžibulić

UTICAJ TERAPIJE GVOŽĐEM I
ERITROPOETINOM I POLIMORFIZMA
ACE D/I NA SUZBIJANJE ANEMIJE KOD
BOLESNIKA NA HRONIČNOJ
HEMODIJALIZI

Doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Edvin B. Hadžibulić

IMPACT OF IRON AND ERYTHROPOIETIN
TREATMENT ASSOCIATED WITH
ACE D/I POLYMORPHISM ON
ANEMIA MANAGEMENT IN CHRONIC
HEMODIALYSIS PATIENTS

Doctoral Dissertation

Beograd, 2016

MENTOR DISERTACIJE:

Profesor dr Marina Savin, redovni profesor na katedri interne medicine (nefrologija) Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Prof. dr Biljana Stojimirović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Slobodan Ristić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. N. Sar. dr Sanja Stanković, Centar za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu

DATUM ODBRANE: _____

Veliku zahvalnost upućujem Redovnom profesoru dr Marini Savin za mentorstvo i visoko profesionalnu pomoć, korisne sugestije i podršku pruženu tokom izrade doktorske disertacije.

Zahvalnost takođe izražavam Docent dr Tanji Damnjanović, N. Sar. dr Sanji Stanković, internisti-kardiologu dr Denisu Bošnjaku, nefrologu dr Biserki Aksić-Milićević, dr Nedimu Hamzagiću kao i lekarima dijaliznog centra u Novom Pazaru, glavnoj sestri Marijani Ratković i svim medicinskim sestrama dijaliznih centara u Novom Pazaru, Kraljevu i Tutinu na lepoj saradnji i profesionalnoj pomoći tokom izrade doktorske disertacije.

Posebno se zahvaljujem V.N.Sar. dr Nikoli Kocevu sa Instituta za medicinsku statistiku Medicinskog fakulteta u Beogradu na savetima i pomoći tokom statističke obrade podataka.

Inspiracija i izvor snage u izradi doktorske disertacije je bila moja porodica, supruga Fikreta, moje dve ćerke Selma i Esma i sin Damir. Zahvalnost upućujem i svojoj sestri Aidi, sestričini Emimi i sestriću Enveru na podršci da istrajem u svom radu.

Doktorsku disertaciju posvećujem svojim roditeljima, rahmetli ocu Brahu i svojoj dragoj majci Mevljudi, koji su mi utabali put visokih humanih vrednosti.

Mr sci. dr Edvin B. Hadžibulić

UTICAJ TERAPIJE GVOŽĐEM I ERITROPOETINOM I POLIMORFIZMA ACE D/I NA SUZBIJANJE ANEMIJE KOD BOLESNIKA NA HRONIČNOJ HEMODIJALIZI

Edvin B. Hadžibulić

Rezime

Uvod: Anemija je jedna od glavnih komplikacija koja se javlja u hroničnoj bolesti bubrega (CKD), terminalnoj bolesti bubrega (ESRD) i na dijalizi i nezavistan je prediktor morbiditeta i mortaliteta kod ovih bolesnika (10,11). Smanjena produkcija endogenog eritropoetina (Epo) i nedostatak gvožđa (Fe) dva su neodvojiva razloga usporavanja i prekida diferencijacije i maturacije eritrocita u kostnoj srži i predstavljaju glavne razloge koji dovode do smanjene eritropoeze u bolesnika na dijalizi. Korekcija statusa feremije redovnom nadoknadom Fe od ključne je važnosti u lečenju anemijskog sindroma kod bolesnika sa CKD, ESRD i na dijalizi. Svakako opravdano, primena preparata Fe je u porastu, zajedno sa primenom rekombinantnog humanog eritropoetina (rHu Epo), (49), a preporučeni ciljni hemoglobin (HGB) je korigovan sa 130 na 105-110 g/L, na osnovu utvrđenog bezbedonosnog profila rHu Epo za bolesnike sa CKD (50-52). Aktuelni vodiči lečenja anemije na hemodijalizi (K/DIGO) liberalizuju upotrebu Fe kod bolesnika sa CKD (53). Angiotenzin II direktno povećava proliferaciju eritroidnih progenitora u in vitro uslovima (41,42). Pokazana je veća potreba za količinom rHuEpo kod bolesnika sa ACE genotipom II za postizanje adekvatne korekcije krvne slike, u odnosu na bolesnike sa DD genotipom na hroničnoj ambulatornoj peritonealnoj dijalizi (44). Kardiovaskularni status bolesnika na hemodijalizi je pod snažnim uticajem stepena anemije i medijatora iz sistema renin-angiotenzin, koji se moduliraju pod uticajem polimorfizma konvertaze angiotenzina I (ACE) genotipa. Hipertrofija leve komore (HLK) veoma je česta u CKD (do 40% bolesnika), a prema pojedinim istraživanjima i do 75% bolesnika na dijalizi razvije HLK (158,173). U literaturi nema podataka o međudejstvu modaliteta supstitucije Fe (IV prema peroralnom), ACE genotipa i odgovora na terapiju rHu Epo kod bolesnika na hemodijalizi, što je od kliničkog interesa za modulaciju protokola terapije anemije.

Ciljevi: Ciljevi našeg istraživanja bili su da se ispita uticaj modaliteta supstitucije gvožđa (per os prema IV) i ACE polimorfizama I/D na anemiju i kardijalni komorbiditet kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, na osnovu: 1) Razlika usled načina davanja gvožđa (per os prema IV) u postizanju referentne feremije, u nivoima raspoloživog i rezervnog gvožđa i u postizanju referentne hemoglobinemije tokom 9 meseci terapije rHuEpo beta kod bolesnika na hemodijalizi; 2) Potrebne doze rHuEpo beta tokom 9 meseci u suzbijanju anemije kod bolesnika na terapiji Fe (per os prema IV) na hemodijalizi sa genotipom ACE DD prema genotipu ACE II/DI; 3) Uticaja nivoa raspoloživog i rezervnog Fe na kardijalni komorbiditet kod bolesnika na hemodijalizi.

Materijal i metode: Istraživanje predstavlja prospektivnu i randomiziranu studiju u populaciji od ukupno 101 adultnog bolesnika koji su bili na programu hronične hemodijalize u dijaliznim centrima Opšte bolnice Novi Pazar, Zdravstvenog centra "Studenica" Kraljevo i doma Zdravlja Tutin, u periodu tokom 2014. godine. Od 101og bolesnika koji su uključeni u istraživanje u trajanju od devet meseci, 92 bolesnika su završila protokol istraživanja, od kojih je polovina (46 bolesnika) primala oralni Fe glukonat, a polovina IV gvožđe glukonat. Svi bolesnici bili su na programu bikarbonatne hemodijalize (HD) tri puta nedeljno, prosečno 12 h nedeljno, na aparatima za HD sa kontrolisanom ultrafiltracijom, na standardnom rastvoru za HD, kako bi adekvatnost dijalize bila $Kt/V > 1.2$. Glavni inkluzivni kriterijumi bili su nivo feritina u serumu < 800 ng/mL i TSAT $> 15\%$ aproksimativno. Posle mesec dana pripreme bolesnika za dostizanje ovih kriterijuma, koja je uključivala primenu rHuEpo beta i Fe (ako je potrebno IV Fe) ukoliko je TSAT bio veći od 15% aproksimativno, bili su svrstani metodom proste randomizacije u dve terapijske grupe - grupa Per os FE (na peroralnom preparatu gvožđe glukonata) i grupa IV FE (na parenteralnom preparatu gvožđe glukonata). Prva grupa bolesnika (grupa "Peroralno FE") dobijala je peroralni preparat gvožđe glukonata u dozi 50-100 mg dnevno, naštine, ujutru, pre obroka, uz oralni preparat vitamina C 500 mg. Kod druge grupe bolesnika (grupa "IV FE") supstitucija gvožđa vršena je parenteralno gvožđe glukonom u infuziji 100 mg/5mL rastvorenog u 100 mL 0,9% NaCl, na kraju svake hemodijalize do postizanja zadovoljavajućeg nivoa hemoglobina (HGB) 105 g/L i TSAT $> 20\%$, zatim jednom u petnaest dana. Bolesnici su primali rHu Epo beta u početnoj dozi 200 IU/kg subkutano 3 x nedeljno na kraju sesije HD, sve do porasta HGB u krvi za +10 g/L. Terapija se

nastavljala umanjenom dozom rHu Epo beta za 25% do porasta HGB na 110 g/L, zatim se proređuje na 7 ili 15 dana. Adekvatnost dijalize određivana je indeksom Kt/V, prema Daugirdasovoj formuli. Svi bolesnici su tokom 9 meseci istraživanja bili na terapiji ACE inhibitorom, u cilju kontrole krvnog pritiska do vrednosti 145/85mmHg. Biohemijski parametri prometa Fe i odgovora kostne srži na terapiju rHu Epo procenjivani su sledećim hematološkim parametrima: serumsko gvožđe (sFe), ukupni kapacitet transferina za vezivanje gvožđa (TIBC), procenat saturacije tranferina gvoždem (TSAT), koncentracija feritina, koncentracija transferina, procenat hipohromnih eritrocita (HRC), količina hemoglobina u retikulocitima (CHr) na tri meseca, serum-solubilni transferinski receptor (sTfR) i odnos solubilnog transferinskog receptora prema feritinu (sTfR/feritin x100), na početku i na kraju studije (prvi i deveti mesec). Praćeni su sledeći biohemijski parametri anemije: hemoglobin u krvi (HGB), broj eritrocita (RBC) i eritrocitni i retikulocitni indeksi na tri meseca, hematokrit (HCT), srednji volumen eritrocita (MCV), srednja koncentracija (MCHC) i količina (MCH) hemoglobina u eritrocitima, broj i procenat retikulocita (Rtc), procenat hipohromnih eritrocita (HRC). Kardiovaskularni status bolesnika određivan je na osnovu ehokardiografskih morfoloških karakteristika leve komore (LK), relativne debljine zida LK (RWT), indeksa mase LK na jedinicu površine tela (LVMI) i geometrije promena LK (Geometrija RWT), na početku i posle 9 meseci terapije i procenom ejeckione frakcije leve komore (EF), kao i praćenjem krvnog pritiska (dijastolnog, sistolnog i srednjeg arterijskog pritiska) na tri meseca. Molekularno-genetičko ispitivanje podrazumevalo je izolaciju ukupne genomske DNK iz limfocita periferne krvi bolesnika i analizu polimorfizama gena za ACE primenom reakcije lančane polimerizacije (PCR).

Rezultati: Efikasnost lečenja bila je slična između terapijskih grupa supstitucije gvožđa i polimorfizma ACE I/D, u cilju održavanja preporučene vrednosti hemoglobinemije (ciljni hemoglobin 105-110 g/L). Vrednosti hematoloških parametara (RBC, HGB, HCT, MCV i MCHC, % Rtc) bile su slične između dve terapijske grupe supstitucije Fe, u tačkama preseka 1, 3, 6 i 9ti mesec. Ukupna doza rHu Epo beta koju su dobijali naši bolesnici tokom devet meseci istraživanja nije se razlikovala u odnosu na polimorfizam genotipa ACE I/D. Nivoi sFe bili su stabilni u grupi bolesnika koji su dobijali IV Fe glukonat, slično kao i u grupi bolesnika na peroralnom Fe glukonatu. TSAT je bio zadovoljavajućih prosečnih vrednosti u obe terapijske grupe (prosečno 30

+2%), izrazito stabilna na IV Fe tokom 9 meseci terapije, a opadajućih vrednosti na peroralnom Fe tokom prvog trimestra terapije, zatim stabilna. Naši bolesnici koji su dobijali parenteralno Fe glukonat ostvaruju stabilne vrednosti TIBC, TSAT i %HRC. Nije bilo značajne razlike u nivou feritina između dve terapijske opcije supstitucije Fe tokom 9 meseci, oralno prema IV Fe, nivoi feritina bili su u okviru preporučenih vrednosti. Praćenje vrednosti navedenih parametara (HRC, CHr, sTfR, %Rtc) kod naših bolesnika, na osnovu 4 preseka tokom 9 meseci terapije Fe, pokazuju da su oba modaliteta nadoknade gvožđa (oralno Fe prema IV Fe) sa dobrom saturacijom Fe i da obezbeđuju adekvatne uslove za optimalnu eritropoezu. Vrednosti sTfR u grupi bolesnika na peroralnom Fe blago rastu, dok na IV Fe blago opadaju za 9 meseci terapije, u istom smislu se menjao indeks sTfR prema feritinu, tako da je razlika u 9 mesecu terapije značajna između oralne terapije Fe i IV terapije Fe. Uočene su razlike u ranom odgovoru, tokom prvih 3 meseca, na supstituciji rHu Epo kod bolesnika na hemodijalizi, u zavisnosti od modaliteta terapije gvožđa i od D/I polimorfizma ACE genotipa. Kod bolesnika na IV supstituciji gvožđa (Fe) i kod nosilaca ACE genotipa DD značajno je veći porast hemoglobinemije u trećem mesecu terapije rHu Epo (251). Pokazali smo da se RWT nije značajno promenila posle 9 meseci peroralne supstitucije Fe (medijana RWT u prvom i u 9om mesecu iznosila je 0.44 cm), slično kao na IV supstituciji Fe (medijana RWT u porastu sa 0.45 na 0.48 cm, $p>0.05$). Ejekciona frakcija (EF) leve komore kod naših bolesnika na peroralnoj supstituciji Fe glukonata opada (medijana EF sa 60 na 55%, $p<0.05$), dok se na IV supstituciji Fe nije značajno promenila posle 9 meseci (medijana EF ostaje 55%, $p>0.05$). Kod polovine bolesnika na peroralnom Fe, a kod 65% bolesnika na IV Fe, EF leve komore se ne menja, a po 13% bolesnika na oba modaliteta supstitucije Fe povećalo je EF leve komore posle 9 meseci terapije. Obrnuto, LVMi se pogoršao na IV terapiji Fe, a nepromenjen je na peroralnom Fe, iako veći relativni broj naših bolesnika zadržava normalan nalaz LVMi na IV Fe nego na peroralnom Fe (58.82% prema 50%). Geometrija LK se nije značajno promenila na IV Fe i 94.1% naših bolesnika zadržalo je koncentričnu hipertrofiju LK, dok se geometrija leve komore pogoršavala na peroralnom Fe ($p<0.05$) i samo 64.7% bolesnika ostaje sa koncentričnom hipertrofijom LK, a jedna trećina pokazuje progresiju u ekscentričnu hipertrofiju LK. U grupi naših bolesnika sa ekscentričnom hipertrofijom LK (u geometriji srca RWT kategorija teškog poremećaja), koji su bili na peroralnoj

supstituciji gvožđa, poboljšanje nalaza posle 9 meseci ostvaruje 33,3% bolesnika i to je manje u odnosu na bolesnike na IV gvožđu (38,5%) koji su poboljšali nalaz prelaskom u koncentričnu hipertrofiju LK. Takođe, manji broj bolesnika na oralnom Fe zadržava normalan nalaz geometrije srca, prema bolesnicima na IV Fe (44,4% prema 50%). U kategoriji koncentrične hipertrofije ostaju gotovo svi bolesnici (94,11%) na IV Fe, a samo 64,70% bolesnika na peroralnom Fe posle devet meseci terapije. Kod naših bolesnika nije uočena promena zadnjeg zida LK (RWT) posle 9 meseci terapije između nosioca ACE genotipa II, ID ili DD, medijana RWT se blago snižavala u ACE genotipu DD, a povećavala u grupi ACE II, ID. Posle 9 meseci terapije kod 54 bolesnika sa DD genotipom, 12 bolesnika je poboljšalo EF LK, a 26 je pogoršalo EF i razlika je bila statistički značajna ($p=0.020$). U grupi 67 nosioca ACE genotipa II ili DI između prvog i 9og meseca došlo je do pogoršanja vrednosti EF leve komore kod 19 bolesnika (28.36%), EF se povećala kod 10 (14.92%) bolesnika, a kod 38 (56.71%) bolesnika ostala je nepromenjena. U grupi ACE genotipa DD kod 16 od 25 (60%) bolesnika nije bilo promene u EF leve komore, kod 2 (8%) došlo je do povećanja EF, a kod 8 (32%) EF je manja posle 9 meseci terapije. Promene u kategorijama LVMI kod bolesnika iz grupe ACE genotip II, DI od prvog do devetog meseca bile su statistički značajne ($p=0.022$), u smislu pogoršanja LVMI, slično kao u grupi bolesnika sa ACE genotipom DD ($p=0.034$). Od 10 bolesnika sa DD genotipom koji su imali koncentričnu hipertrofiju srca, posle 9 meseci 70% održava koncentričnu hipertrofiju, a 30% pogoršava nalaz progresijom u ekscentričnu hipertrofiju. Od 24 bolesnika sa II/DI genotipom 83.3% zadržava koncentričnu hipertrofiju posle 9 meseci, a 16.7% bolesnika proglašavaju nalaz u ekscentričnu hipertrofiju.

Zaključak: Analiza uticaja modaliteta supstitucije gvožđa (per os prema IV) tokom 9 meseci i ACE polimorfizama I/D na kontrolu anemije eritropoetinom beta i kardijalni komorbiditet kod 92 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi pokazala je da oba modaliteta supstitucije Fe, peroralni gvožđe glukonat ili intravenska terapija gvožđe glukonom podjednako su efikasna u kontroli anemije rHu Epo beta kod bolesnika na hemodijalizi, u postizanju referentne hemoglobinemije (105 g/L) tokom 9 meseci praćenja. Kod bolesnika na IV supstituciji gvožđa (Fe) i kod nosilaca ACE genotipa DD značajno je veći porast hemoglobinemije u trećem mesecu terapije rHu Epo, modalitet terapije gvožđem i genotip ACE I/D su dva nezavisna faktora koja pomažu u ranoj stimulaciji

eritropoeze (251). Ukupna doza rHuEpo koju su primali bolesnici tokom devet meseci praćenja nije se razlikovala između dve grupe bolesnika, prema načinu davanja terapije gvoždem, niti je povezana sa I/D polimorfizmom genotipa ACE, odnosno, prema udruženim subgrupama za oba kriterijuma – modalitet supstitucije Fe glukonata i polimorfizam I/D ACE genotip. Analiza ukupnog broja 92 bolesnika ukazuje na značajno smanjenje vrednosti EF posle 9 meseci terapije ($p=0.020$), EF nije bila značajno promenjena posle 9 meseci u grupi na IV terapije Fe ($p=0.235$), a opadala je na peroralnom Fe ($p=0.038$). Blizu 13% bolesnika iz obe grupe terapije Fe povećava EF posle 9 meseci. Promene u kategorijama LVMi od prvog do devetog meseca kod bolesnika na oralnom Fe nisu bile statistički značajne ($p=0.152$), dok su u grupi bolesnika na IV Fe promene bile u prilog pogoršanja LVMi ($p=0.002$). Manji relativni broj poboljšanja geometrije srca je kod teških srčanih bolesnika (ekscentrična hipertrofija srca) na peroralnom Fe (33.3%), nego na IV Fe (38.46%) i manji relativni broj bolesnika zadržava normalan nalaz na peroralnom Fe (44.4%), nego na IV Fe (50%). Koncentričnu hipertrofiju zadržava 94.11% bolesnika na IV Fe, a samo 64.70% bolesnika na peroralnom Fe. U grupi 67 bolesnika sa ACE genotipom II ili DI nije bilo značajne promene u RWT, dok je EF leve komore značajno promenjena posle 9 meseci terapije. Kod 56.71% nalaz je isti, kod 14.92%, uočeno je poboljšanje i kod 28.36% opadanje EF prema nalazu u prvom mesecu ($p=0.038$). Prosečne vrednosti sistolnog, dijastolnog i srednjeg krvnog pritiska (MAP) su se slično kretale u dve terapijske grupe Fe (Per os FE i IV FE), dok su bile veće u grupi genotipa ACE II,DI nego ACE DD, što ukazuje na bolju kontrolu krvnog pritiska u nosilaca ACE DD genotipa, primenjenom terapijom ACE inhibitorom.

Ključne reči: hemodijaliza, hemoglobin, peroralno gvožđe, intravensko gvožđe, rHu Epo, polimorfizam genotipa ACE D/I

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Nefrologija

IMPACT OF IRON AND ERYTHROPOIETIN TREATMENT ASSOCIATED WITH ACE D/I POLYMORPHISM ON ANEMIA MANAGEMENT IN CHRONIC HEMODIALYSIS PATIENTS

Edvin B. Hadžibulić

Summary

Introduction: Anemia is one of the major complications which occurs in chronic kidney disease (CKD), end-stage renal disease (ESRD) and on dialysis and is an independent predictor of morbidity and mortality in these patients (10,11). Decreased production of endogenous erythropoietin (Epo) and iron deficiency (Fe) are the two inseparable reasons of slowdown and disruption of differentiation and maturation of red blood cells in the bone marrow and are the main reasons that lead to reduced erythropoiesis in dialysis patients. Correction of the anemia status with regular compensation of Fe is crucial in treating anemia syndrome in patients with CKD, ESRD and dialysis. Certainly justified, the use of Fe medicines is on the rise, along with the implementation of recombinant human erythropoietin (rHu Epo), (49), and the recommended target HGB is adjusted from 130 to 105-110 g / L, based on the established complex security profile rHu Epo in patients with CKD (50-52). The current guideline of the treatment of anemia in hemodialysis patients (K/DIGO) liberalizes the use of Fe in patients with CKD (53). Angiotensin II directly increases the proliferation of erythroid progenitors in in vitro conditions (41,42). A greater need is expressed for the amount of rHu Epo in patients with ACE genotype II to achieve adequate correction of the blood count, compared to patients with the DD genotype on chronic ambulatory peritoneal dialysis (44). The cardiovascular status of patients on hemodialysis is strongly influenced by the degree of anemia and mediators of the renin-angiotensin system, which can be modulated by the influence of angiotensin converting polymorphism I (ACE) genotype. Left ventricular hypertrophy (LVH) is very common in CKD (up to 40% of patients), and according to some studies up to 75% of patients on dialysis develop LVH (158,173). In the literature there is no data on interacting modalities of Fe substitution (IV towards peroral), ACE genotype and responses to rHu Epo therapy in hemodialysis patients, which is of clinical interest in the protocol modulation of anemia therapy.

Objectives: The objectives of this study were to investigate the influence of modalities of iron substitution (Per os to IV) and ACE polymorphism I/ towards anemia and cardiac co-morbidity in patients on chronic hemodialysis, based on: 1) Difference due to the mode of iron administration (Per os towards IV) in achieving the benchmark feremia, in levels of disposable and reserve iron and in achieving reference hemoglobinemia during 9 months of treatment with rHuEpo beta in hemodialysis patients; 2) The needed dose of rHu Epo beta during 9 months in combating anemia in patients treated with Fe (Per os to IV) on hemodialysis with ACE DD genotype to genotype ACE II/DI; 3) The impact of disposable levels and reserve Fe on cardiac comorbidity in patients on hemodialysis.

Materials and Methods: The study is a prospective and randomized study in a population of 101 adult patients who were on hemodialysis in the dialysis centers of the General Hospital of Novi Pazar, the Health Center "Studenica" in Kraljevo and the Health-care Center of Tutin in the period during 2014. Out of the 101 patients involved in the study for a period of nine months, 92 patients completed the study protocol, half of them (46 patients) received oral iron gluconate, and half of them IV iron gluconate. All the patients were on bicarbonate hemodialysis (HD) three times a week, an average of 12 hours per week on instruments of HD-controlled ultrafiltration, with standard solution for HD to achieve the dialysis adequacy at $Kt/V > 1.2$. The main inclusion criteria were the level of ferritin in serum < 800 ng/mL and TSAT $> 15\%$ approximately. After a month of follow-up of the patient to achieve these criteria, the application of which was including application of rHu Epo beta and Fe (IV Fe if necessary) if TSAT was greater than 15% approximately were classified by the method of simple randomization into two treatment groups - groups Per os FE (iron gluconate peroral preparation) and group IV FE (on iron gluconate parenteral preparation). The first group of patients (group Per os FE) received oral composition of iron gluconate in a dose of 50-100 mg daily, in the morning before a meal with a vitamin C pill of 500 mg. In the second group of patients (group IV FE) the iron substitution is performed in parenteral iron gluconate infusion of 100 mg/5 mL, dissolved in 100 mL of 0.9% NaCl, at the end of each dialysis session until reaching a satisfactory level of hemoglobin (HGB) 105 g/L and TSAT $> 20\%$, and then once in fifteen days. Patients were treated with rHu Epo beta at the initial dosage of 200 IU/kg BW subcutaneously, 3 times a week at the end of the

HD session, until the increase in HGB level in blood for + 10 g/L. The treatment continued with rHu Epo beta dose reduced by 25% until the increase in HGB of 110 g/L, and then thinned at 7 or 15 days. The dialysis adequacy is determined with index Kt/V, according to the Daugirdas formula. All patients during the 9 month study were treated with ACE inhibitor in order to control blood pressure to a value of 145/85 mmHg. The biochemical parameters of Fe metabolism and the response of bone marrow to rHu Epo therapy were evaluated by the following hematological parameters in serum: iron serum (sFe), the total iron-binding capacity (TIBC), the percentage of transferrin saturation levels (TSAT), ferritin concentration, transferrin concentration, the percentage of hypochromic red blood cells (HRC), the amount of reticulocyte hemoglobin content (CHR) for three months, soluble transferrin receptor (sTfR) and the ratio of soluble transferrin receptor towards ferritin ($sTfR / \text{ferritin} \times 100$) at the beginning and the end of the study (the first and the ninth month). We assessed the following biochemical anemia parameters: hemoglobin in the blood (HGB), the number of red blood cells (RBC) and erythrocyte and reticulocyte indices every three months, hematocrit (HCT), mean cellular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), reticulocyte (Rtc) count and percentage. The cardiovascular status of patients was determined on the basis of echocardiographic morphological characteristics of the left ventricle (LV), relative wall thickness LK (RWT), left ventricular mass index (LVMI) and geometry changes of LV (Geometry RWT) at the beginning and after 9 months of therapy and assessment of left ventricular ejection fraction (EF), as well as monitoring of the blood pressure (diastolic, systolic and mean arterial pressure) on every three months. The molecular genetic analysis consisted of isolation of the total genomic DNA from peripheral blood lymphocytes, and analysis of gene polymorphisms for ACE by use of a polymerase chain reaction (PCR).

Results: The efficacy of treatment was similar among the treatment groups of iron substitution and polymorphism ACE I/D in order to maintain the recommended value hemoglobinemia (target hemoglobin 105-110 g/L). Values of the hematological parameters (RBC, HGB, HCT, MCV and MCHC, reticulocytes %) were similar between the two treatment groups of Fe substitution in the interface 1, 3, 6 and 9th month. The total dose of rHu Epo beta our patients received during the nine months of research did not differ in respect to genotype polymorphism ACE I/D. The sFe levels

were stable in the group of patients who received IV Fe gluconate, similar as the second group of patients on peroral Fe gluconate. TSAT is satisfactory with average values in both treatment groups (average 30 + -2%), extremely stable on IV Fe during the 9 months of therapy, and decreasing values on the peroral Fe during the first trimester of therapy, then stable. Our patients who received parenteral Fe gluconate achieved stable values of TIBC, TSAT and % HRC. There were no significant differences in the level of ferritin between the two treatment options of Fe substitution for 9 months, the oral towards IV Fe, ferritin levels were within the recommended values. Monitoring the levels of the parameters HRC, CHr, sTfR, % Rtc in our patients based on 4 sections during the 9 months of Fe therapy, indicate that both modalities of iron substitution (oral Fe to IV Fe) with fine Fe saturation and to provide adequate conditions for optimal erythropoiesis. The values of sTfR in patients on peroral Fe are in mild growth, while in the IV Fe they slightly decrease in the 9 month treatment, in the same sense, the ratio has changed towards ferritin so that the difference in the 9 month therapy is significant between the oral Fe therapy and IV Fe therapy. Differences were detected in the early response, during the first 3 months, in the substitution of rHuEpo in hemodialysis patients, depending on the modalities of iron treatment and of D / I polymorphism of the ACE genotype. In patients on IV iron (Fe) substitution and in patients with ACE DD genotype significantly greater is the increase of hemoglobinemia in the third month of rHu Epo therapy (251). We have shown that RWT has not changed significantly after 9 months of peroral Fe substitution (median RWT in the first and in the 9 month amounted to 0.44 cm), similar to IV Fe substitution (median RWT increased from 0,45 to 0,48 cm, $p > 0.05$). Ejection fraction (EF) of the left ventricle in patients on peroral Fe gluconate substitution decreases (median EF from 60 to 55%, $p < 0.05$), while on the IV Fe substitution it has not changed significantly after 9 months (median EF remains 55%, $p > 0.05$). In half of the patients on peroral Fe, and in 65% of patients on IV Fe the ejection fraction of the left ventricular was unchanged, and 13% of patients in both modalities of Fe substitution increased the left ventricular after 9 months of treatment. Conversely, the LVMI deteriorated in IV Fe therapy, and it is unchanged in the peroral Fe, although relatively higher is the number of patients which retained normal LVMI results on the IV Fe than the peroral Fe (58.82% vs. 50%). LK geometry has not changed significantly in the IV Fe and 94.1% of our patients retained the LK concentric

hypertrophy, while the geometry of the left ventricle worsened in the peroral iron ($p < 0.05$) and only 64.7% of patients remained with concentric LK hypertrophy, and a third shows progression in the eccentric LK hypertrophy. In our group of patients with eccentric hypertrophy LK (in heart geometry RWT category of severe disorder) who were on peroral iron substitution improvement of the findings after 9 months achieved 33.3% of patients, but it is less than the 38.5% of patients on IV iron, which have also improved the findings transferring in concentric LK hypertrophy. Also, fewer patients on oral Fe retains normal results of heart geometry compared to the IV Fe patients (44.4% vs. 50%). In the category of concentric hypertrophy remain almost all the patients (94.11%) on the IV Fe, and only 64.70% of patients on peroral Fe after nine months of therapy. In our patients, there was no change in the relative LK wall (RWT) after 9 months of treatment between the holders of ACE genotypes II, ID and DD, median RWT slightly lowered in the ACE genotype DD, but increased in the group ACE II, ID. After 9 months of treatment in 54 patients with the DD genotype, 12 patients improved the EF LK, and 26 aggravated EF and the difference was statistically significant ($p = 0.020$). In the group of 67 carriers of ACE genotype II or DI between the first and the ninth month there has been a deterioration of the EF value of the left ventricular in 19 patients (28.36%), the EF increased in 10 (14.92%) patients and in 38 (56.71%) patients it remained unchanged. In the ACE group of DD genotype in 16 of 25 (60%) patients there was no change in the left ventricular, in 2 (8%) there was an increase of the EF, and in 8 (32%) the EF is less after 9 months of treatment. Changes in the LVMi categories in patients from group ACE genotype II, DI from the first to the ninth month were statistically significant ($p = 0.022$) in the sense of worsening the LVMi, similar in group of patients with ACE genotype DD ($p = 0.034$). Of the 10 patients with the DD genotype who had concentric hypertrophy of the heart, after 9 months 70% retains concentric hypertrophy, and 30% worsens the finding with progression into eccentric hypertrophy. Of the 24 patients with II/DI genotype, 83.3% retained concentric hypertrophy after 9 months, and 16.7% of patients worsen the finding into eccentric hypertrophy.

Conclusion: Analysis of the impact of the iron substitution modalities (Per os to IV) during 9 months and ACE polymorphisms I/D to control anemia erythropoietin with beta and cardiac comorbidities in 92 patients on chronic hemodialysis showed that both

modalities of Fe substitution, peroral iron gluconate or intravenous therapy with iron gluconate were equally effective in controlling anemia rHuEpo beta in patients on hemodialysis in achieving reference hemoglobinemia (105 g/L) during the 9 months follow-up. In patients on IV iron (Fe) substitution and in patients with ACE genotype DD, significantly greater is the increase of hemoglobinemia in the third month of the rHuEpo therapy, therapy modality with iron and genotype of ACE I/D are two independent factors that help in the early erythropoiesis stimulation (251). The total dose of rHuEpo which the patients received during the nine months of follow-up did not differ between the two groups according to the mode of iron administration, nor is it associated with I/D polymorphism of ACE genotype, or towards the joint subgroups for both criteria - modality substitution of Fe gluconate and polymorphism I/D genotype ACE. Analysis of the total number of 92 patients indicates a significant reduction in the value of EF after 9 months of treatment ($p = 0.020$), EF was not significantly changed after 9 months in the group IV Fe therapy ($p = 0.235$), and decreases to peroral Fe ($p=0.038$). Close to 13% of patients in both Fe treatment groups increases the EF after 9 months. Changes in categories from the first to the ninth month in patients on oral Fe were not statistically significant ($p = 0.152$), while in the group of patients on IV Fe the changes were in favor of worsening LVMI ($p=0.002$). A smaller relative number of improvements of heart geometry is in severe heart patients (eccentric cardiac hypertrophy) on peroral Fe (33.3%), than in the IV Fe (38.46%) and lower relative number of patients retains normal results on the peroral Fe (44.4%), than in the IV Fe (50%). Concentric hypertrophy retains 94.11% of patients on IV Fe, and only 64.70% of patients on peroral Fe. In the group of 67 patients with ACE genotype II or DI there were no significant changes in RWT, while the EF of the left ventricular is significantly changed after 9 months of treatment. With 56.71% the finding is the same, at 14.92% it showed improvement and with 28.36% the EF decreased according to the findings in the first month ($p = 0.038$). Mean values of the systolic, diastolic and mean blood pressure (MAP) are similarly moved in the two Fe treatment groups (per os Fe and IV Fe), while they were higher in the ACE genotype group II, DI than group ACE DD, indicating better blood pressure control in the ACE DD genotype carriers applied with the ACE inhibitor therapy.

Keywords: CKD, hemodialysis, hemoglobin, peroral iron, intravenous iron, rHuEpo, polymorphism ACE D/I genotype

Science Field: Medicine

Special scientific topic: Nephrology

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Hronična bolest bubrega i terminalna bolest bubrega.....	1
1.2. Anemija kod bolesnika sa hroničnom bolesti bubrega	3
1.2. a. Eritropoetin i eritropoeza.....	4
1.2. b. Anemija kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi.....	7
1.3. Promet gvožđa	8
1.3. a. Apsorpcija gvožđa	10
1.3. b. Regulacija prometa gvožđa	12
1.4. Poremećaj prometa gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi.....	14
1.4. a. Poremećena apsorpcija gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi	15
1.4. b. Gubitak gvožđa na hroničnoj hemodijalizi	16
1.4. c. Nedostatak gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi	16
1.5. Marker prometa gvožđa i testovi za procenu poremećaja prometa gvožđa..	17
1.5. a. Novi markeri prometa gvožđa	20
1.6. Kardioresnalni sindrom i renokardijalni sindrom.....	26
1.6. a. Faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti u terminalnoj bolesti bubrega.....	28
1.6. b. Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi	29
1.6. c. Sindrom kardioresnalne anemije.....	30
1.7. Angiotenzin I konvertujući enzim	31
1.7. a. Gen za angiotenzin I konvertujući enzim	31
1.7. b. Inercijsko-delecijski polimorfizam ACE gena	32
1.7. c. ACE polimorfizam, oboljenje koronarnih arterija i infarkt miokarda....	34
1.7. d. Polimorfizam ACE i hipertrofija leve komore	35

1.7. e. Uticaj angiotenzina II i insercijsko/delecijskog polimorfizma ACE genotipa na eritropoezu	36
1.8. Uticaj modaliteta nadoknade gvožđa u terapiji eritropoetinom i I/D polimorfizma ACE genotipa na suzbijanje anemije kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi	38
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	39
3. MATERIJAL I METODE	40
4. REZULTATI	49
4.1. ANALIZA PROMENA POJEDINAČNIH HEMATOLOŠKIH PARAMETARA	60
4.1.1. Broj eritrocita u krvi (RBC x10 ¹² /l) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	60
4.1.2. Koncentracija hemoglobina u eritrocitima, hemoglobin (HGB g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	63
4.1.3. Volumen eritrocita u jedinici pune krvi, Hematokrit (HCT L/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	65
4.1.4. Prosečni volumen eritrocita, mean cell volume (MCV fL) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	67
4.1.5. Prosečna koncentracija HGB u eritrocitima, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika, na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	70
4.1.6. Feremija, serumsko gvožđe (sFe μmol/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	73

4.1.7. Ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa, Total iron binding capacity (TIBC $\mu\text{mol/L}$) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	77
4.1.8. Procenat zasićenja transferina gvoždem (transferrin saturation levels, TSAT %, $s\text{Fe}/\text{TIBC} \times 100$) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	81
4.1.9. Transferin u serumu (g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	84
4.1.10. Feritin u serumu (ng/mL) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	88
4.1.11. Procenat hipohromnih eritrocita (HRC%) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	92
4.1.12. Procenat retikulocita (%Rtc) od ukupnog broja eritrocita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	95
4.1.13. Koncentracija hemoglobina u retikulocitima CHCr (g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	99
4.1.14. Količina hemoglobina u retikulocitima (CHr, pg/ćeliji) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	103
4.1.15. Srednji volumen retikulocita, nezreli eritrociti MCVr (fL) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja.....	106

4.1.16. Solubilni transferinski receptor, sTfR (mg/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji rHuEpo beta tokom 9 meseci praćenja	109
4.1.17. Indeks sTfR prema feritinu, sTfR/ LG10(feritin) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji rHuEpo beta tokom 9 meseci praćenja	112
4.1.18. Efikasnost terapije gvoždem i eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja na osnovu hematoloških parametara i parametara prometa gvožđa prikazani su na shemama 4 do 7.....	115
4.2. PROMENE HEMATOLOŠKIH PARAMETARA IZMEĐU GRUPA NOSIOCA GENOTIPA ACE II/DI PREMA ACE DD, TOKOM 9 MESECI PRAĆENJA	119
4.2.1. Koncentracija hemoglobina u eritrocitima, hemoglobin (HGB g/L) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja	119
4.2.2. ANALIZA HEMOGLOBIN SA DVA FAKTORA - Koncentracija hemoglobina u eritrocitima (HGB g/L) u okviru grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD i modaliteta supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji rHuEpo beta tokom 9 meseci praćenja.....	122
4.2.3. Broj eritrocita u krvi (RBC x10 ¹² /L)) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja	126
4.2.4. Broj retikulocita u krvi (x10 ⁹ /L) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja	129
4.2.5. Procenat retikulocita (%Rtc) od ukupnog broja eritrocita između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja	132
4.2.6. Količina hemoglobina u retikulocitima (CHr, pg/ćel) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja	135

4.2.7. Prosečni volumen eritrocita, mean cell volume (MCV, fL) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja	138
4.2.8. Efikasnost terapije gvoždem i eritropoetinom u I/D polimorfizmu ACE genotipa tokom 9 meseci praćenja na osnovu hematoloških parametara i parametara prometa gvožđa prikazani su na Shemama 8 i 9.	141
4.3. UTROŠENO GVOŽĐE I ERITROPOETIN BETA U TERAPIJSKIM GRUPAMA GVOŽĐA I GRUPAMA PREMA GENOTIPU ACE I/D, TOKOM 9 MESECI PRAĆENJA.....	143
4.3.1. Peroralno gvožđe glukonat.....	143
4.3.2. Intravensko gvožđe glukonat	145
4.3.3. Ukupna mesečna doza eritropoetina beta (rHuEpo beta, IU) između dve terapijske grupe supstitucije gvožđa, grupa Per os FE i grupa IV FE, tokom 9 meseci.....	147
4.3.4. Ukupna mesečna doza eritropoetina beta (rHuEpo beta, IU) između dve grupe nosioca genotipova ACE I/D, grupa ACE II/DI i grupa ACE DD	150
4.3.5. Ukupna doza rHuEpo (IU) tokom 9 meseci u suzbijanju anemije kod 92 bolesnika koji su završili studiju	155
4.4. KARDIOLOŠKI PARAMETRI EHOKARDIOGRAFSKOG PREGLEDA U DVE TERAPIJSKE GRUPE GVOŽĐA, NA POČETKU (PRVI MESEC) I NA KRAJU (DEVETI MESEC) ISPITIVANJA	158
4.4.1. Relativna debljina zida leve komore (engl. relative wall thickness, RWT cm) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta	159
4.4.2. Ejekciona frakcija leve komore (EF, %) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta	162
4.4.3. Promena indeksa mase leve komore na jedinicu površine tela (Severity LVMASS index/body surface area, LVMi, gr/m ²) u dve terapijske grupe	

supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta	167
4.4.4. Geometrija relativne debljine leve komore (Geometry RWT) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta	171
4.5. KARDIOLOŠKI PARAMETRI EHOKARDIOGRAFSKOG PREGLEDA U DVE GRUPE ACE GENOTIPA I/D, NA POČETKU (1. MESEC) I NA KRAJU (9. MESEC) ISPITIVANJA.....	174
4.5.1. Relativna debljina zida leve komore (engl. relative wall thickness, RWT cm) između dve grupe nosioca genotipa ACE I/D, grupa ACE II,DI i grupa ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta	175
4.5.2. Ejekciona frakcija leve komore (EF, %) između grupe ACE II,DI i grupa ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci.....	178
4.5.3. Promena indeksa mase leve komore na jedinicu površine tela (Severity LVMASS index/ body surface area, LVMi) između grupe ACE II,DI i grupe ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci	182
4.5.4. Geometrija relativne debljine leve komore (Geometry RWT) između grupa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta	187
4.6. PROMENE U KRVNOM PRITISKU	191
4.6.1. Sistolni krvni pritisak (TAS, mmHg) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	191
4.6.2. Dijastolni krvni pritisak (TAD, mmHg) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	194

4.6.3. Srednji krvni pritisak (MAP, mmHg) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	197
4.6.4. Sistolni krvni pritisak (TAS, mmHg) u dve terapijske grupe ACE genotipa (II,DI i DD) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	200
4.6.5. Dijastolni krvni pritisak (TAD, mmHg) u dve terapijske grupe ACE genotipa (II,DI i DD) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	203
4.6.6. Srednji krvni pritisak (MAP, mmHg) u dve terapijske grupe ACE genotipa (II,DI i DD) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja	206
4.7. PROMENE KARDIOLOŠKIH PARAMETARA U TOKU TERAPIJE GVOŽĐEM I ERITROPOETINOM PREMA TERAPIJSKIM GRUPAMA I GRUPAMA GENOTIPOVA ACE (KARDIOLOŠKI PARAMETRI I KRVNI PRITISAK)	209
4.8. NEŽELJENA DEJSTVA TERAPIJE SUPSTITUCIJE GVOŽĐE GLUKONATOM U PERORALNOM I INTRAVENSKOM PREPARATU	211
5. DISKUSIJA	213
6. ZAKLJUČCI	231
7. LITERATURA	235

1. UVOD

1.1. Hronična bolest bubrega i terminalna bolest bubrega

Odmakla hronična bubrežna insuficijencija (HBI) definiše se postojanjem definitivnog strukturnog oštećenja i funkcionalnih poremećaja bubrega, sa sniženom vrednošću jačine glomerulske filtracije (GFR) $< 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$, a označava se kao hronična bolest bubrega (CKD). Patološke abnormalnosti bubrega praćene su pozitivnim biomarkerima bubrežnog oštećenja, uključujući abnormalnosti u sastavu krvi, urina, kao i odstupanjima u dodatnim testovima za procenu oštećenja bubrega, u periodu tri ili više meseci. Ukupan broj funkcionalnih nefrona je kritično smanjen, što dovodi do hiperfiltracije u preostalim glomerulima i do delimičnog kompenzovanja gubitka ekskretorne, metaboličke i endokrine funkcije bubrega (1).

Hronična bolest bubrega predstavlja veliki zdravstveni problem na globalnom nivou. Posle sastanka Generalne skupštine Svetske zdravstvene organizacije (SZO) 2011. godine, vezano za masovne nezarazne bolesti (*engl. non-communicable disease*, NCDs), napušteno je ranije shvatanje da je CKD komplikacija iz grupe masovnih nezaraznih bolesti (kardiovaskularne bolesti, maligna oboljenja, hronične bolesti pluća i dijabetes). Na osnovu epidemioloških podataka i saopštenja, CKD se u većini zemalja prepoznaje kao poseban entitet masovnih nezaraznih bolesti (NCDs) sa značajnim morbiditetom, mortalitetom, komplikacijama, sa nepovoljnim ishodom, te potrebom za lečenjem nekim od modaliteta zamene bubrežne funkcije (*engl. renal replacement therapy*, RRT), a koji donose i velike troškove lečenja (2).

Prema poslednjim saopštenjima iz Renalnog registra Sjedinjenih Američkih država USRDS 2014. godine, u populaciji američkih državljana starijih od 20 godina, učestalost CKD je veća u odnosu na dijabetes. Proračunata učestalost nekog od stadijuma CKD u ovoj populaciji iznosila je 13,6% i veća je u odnosu na učestalost šećerne bolesti (12,3%). Procena je izvršena na osnovu izmerene vrednosti serumskog kreatinina i prisustva albumina u mokraći u slučajnom populacionom uzorku, u okviru studija preživljavanja (NHANES Survey), (2).

Takođe, u pomenutim saopštenjima navodi se i povećana incidenca CKD, od 12% u periodu 1988-1994. na 14% u periodu 1999-2004. godine, odnosno, značajno veća učestalost CKD u stadijumu 3, od 4,5% na 6%. Starost se ističe kao značajan faktor

rizika za nastajanje i progresiju CKD, pored prisustva hipertenzije, dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti, gojaznosti i metaboličkog sindroma, porodične anamneze za terminalnu bubrežnu slabost (ESRD) i ranijih epizoda akutnog oštećenja bubrega (2).

Progresivno propadanje i gubitak funkcionalnih nefrona (u kraćem ili dužem periodu) dovodi do postepenog trajnog gubitka ekskretorne, metaboličke i endokrine funkcije bubrega, te razvoja terminalnog stadijuma hronične bolesti bubrega (terminalna bubrežna slabost, *engl. end-stage renal disease*, ESRD), kada je jačina glomerulske filtracije (GFR) definitivno opala ispod 15 mL/min/1,73m². Praćena je pojavom uremije i potrebom za nekim od modaliteta zamene bubrežne funkcije (*renal replacement therapy*, RRT), (3).

Ukupan broj lečenih bolesnika sa terminalnom CKD u Sjedinjenim Američkim državama u 2012. godini bio je u porastu na blizu 600.000 bolesnika. Tokom pomenute godine, broj novoregistrovanih bolesnika sa terminalnom CKD iznosio je 114.813 bolesnika. Najveći broj ovih bolesnika nalazio se u starosnoj grupi od 45-65 godina, uz nešto stabilniju incidencu u starijim starosnim grupama, 65 godina i stariji. Značajno veći broj bolesnika sa terminalnom CKD bio je u crnoj rasi i iznosio je 955.4 nova slučaja na milion stanovnika, u odnosu na azijsku rasu sa 343.8 novih slučajeva i belu rasu sa 290.7 novih slučajeva na milion stanovnika. U odnosu na pol, žene su više pošteđene (283.7 novih slučajeva na milion žena), u odnosu na muškarce, sa skoro dva puta većom incidencom od 452.4 nova slučaja na milion muškaraca (2).

Tokom poslednje tri godine trend razvoja terminalne CKD povoljno se menjao i broj novih slučajeva se stabilizovao. Bolje poznavanje bolesti, ranija detekcija, određivanje i lečenje faktora rizika za nastajanje CKD i ESRD, postojanje globalnih programa za lečenje gojaznosti, hipertenzije i dijabetesa usporavaju i pojavu i progresiju bubrežne bolesti. Mortalitet bolesnika sa terminalnom CKD takođe je u stagnaciji. Bolja kontrola infekcija, vakcinacija bolesnika sa terminalnom CKD, popravljjanje statusa vaskularnog pristupa za hemodijalizu, kardioprotektivni zahvati i savremenije metode zamene bubrežne funkcije bili su predmet pažnje zdravstvene zajednice, što je dovelo do opadanja mortaliteta bolesnika sa terminalnom CKD (2).

Smrtnost bolesnika na dijalizi je za oko 25% manja tokom poslednjih 11 godina, kada je iznosila 240.7 smrtnih slučajeva na 1000 pacijenata godišnje u 2001. godini, a

181.4 smrtna slučaja na 1000 bolesnika godišnje, u 2012. godini. Najveći broj smrtnosti je kod starijih bolesnika na dijalizi, preko 65 godina i iznosio je 281.4 smrtna slučaja na 1000 bolesnika godišnje (4).

Godišnja incidenca terminalne CKD u našoj zemlji prosečno iznosi 123 nova slučaja na milion stanovnika. Najveću incidencu od 467 bolesnika na milion stanovnika ima Meksiko, a najmanju Ukrajina sa 45 bolesnika na milion stanovnika. U Sjedinjenim Američkim državama godišnja incidenca terminalne CKD je 285 bolesnika na milion stanovnika. Srbija se nalazi na 31om mestu po godišnjem broju bolesnika, koji razvija terminalnu CKD (2).

Značajni poremećaji zbog progresivnog propadanja ekskretorne funkcije bubrega su retencija vode i soli sa razvojem otoka i povišenog krvnog pritiska, sve do moguće pojave edema pluća, zatim poremećaj prometa elektrolita (pre svega K, H, Ca i P). Zbog složene uloge koju bubrezi imaju u održavanju homeostaze, a koja pored ekskretorne podrazumeva i endokrinu ulogu bubrega, bubrežna insuficijencija može da dovede i do poremećaja skoro svih organskih sistema. Progresija hronične bolesti bubrega udružena je sa povećanim brojem kardiovaskularnih komorbiditeta, poremećajem metabolizma masti, poremećajem metabolizma minerala i kosti i anemijom. Takođe, razvijaju se i oštećenja nervnog sistema sa posledičnim smanjenjem psihosomatskih sposobnosti, seksualna disfunkcija, snižen imunološki potencijal organizma i sklonost infekcijama, a česte su i komplikacije u trudnoći (5). Rano prepoznavanje i pravovremeno preduzimanje terapijskog protokola su esencijalni u usporavanju progresije CKD, boljeg kvaliteta života i popravljanja dužine preživljavanja i u terminalnoj CKD kod bolesnika na dijalizi.

1.2. Anemija kod bolesnika sa hroničnom bolesti bubrega

Anemija se definiše smanjenim vrednostima jednog ili više glavnih parametara procene crvenih krvnih zrnaca: smanjena koncentracija hemoglobina (HGB) u eritrocitima, vrednost hematokrita (HCT) i broj eritrocita u mL krvi. Prema kriterijumima SZO anemija nastaje kada je nivo HGB niži od 130 g/L kod muškaraca i kod žena u postmenopauzi, odnosno, vrednost HGB niža od 120 g/L kod žena u premenopauzi (6).

Prema kriterijumima Nacionalne fondacije za bolesti bubrega (NKF) anemija se definiše sniženim nivoom HGB manjim od 135 g/L kod muškaraca, a manji od 120 g/L kod žena (7).

Kod bolesnika sa CKD uobičajeno se javlja hipoproliferativna, normocitna i normohromna anemija (8). Ona može biti prepoznata u bilo kom stadijumu progresije bolesti bubrega, a stepen anemije je neposredno povezan sa stadijumom progresije CKD. Prema literaturnim saopštenjima, četvrtina bolesnika u prvom stadijumu CKD, preko polovine bolesnika u stadijumu CKD 2, 3 i 4 i čak tri četvrtine bolesnika koji započinju lečenje nekim od modaliteta dijalize, imaju ispoljen anemijski sindrom (9).

Anemija predstavlja jednu od glavnih komplikacija koja se javlja u terminalnoj CKD i nezavistan je prediktor morbiditeta i mortaliteta kod ovih bolesnika. Suzbijanje anemijskog sindroma terapijom rekombinantnim humanim eritropoetinom (rHu Epo) smanjuje hipertrofiju leve komore, popravlja preživljavanje i kvalitet života ovih bolesnika (10,11).

Anemijski sindrom u CKD nastaje delovanjem brojnih mehanizama:

- Najznačajniji i najspecifičniji etiološki faktori nastanka anemije u CKD su snižena sinteza endogenog eritropoetina i smanjen životni vek eritrocita u miljeu hronične sistemske inflamacije u CKD, zatim nedostatak gvožđa (Fe) i vitamina folata ili B12.
- Pored toga, značajni faktori su: gastrointestinalna krvarenja, hiperparatireoidizam i česte infekcije.

1.2. a. Eritropoetin i eritropoeza

Eritropoezni hormon rasta eritropoetin (*engl. Erythropoietin*, Epo) je glikoprotein mase 34 kDa i predstavlja fiziološki regulator produkcije eritrocita. Epo se produkuje u tzv. ćelijama bubrega koje produkuju Epo (*engl. renal Epo-producing cells*, REPs), koje su poseban oblik fibroblasta u intersticijumu bubrega u blizini proksimalnih tubula (12). Sinteza eritropoetina u REPs je usko regulisana potrebom da se u uslovima hipoksije održi homeostaza oksigenacije tkiva. Smanjena produkcija eritropoetina u ćelijama koje sekretuju Epo u bubrezima dovodi do renalne anemije i tzv. anemije u

hroničnoj bolesti (13,14). Koncentracija eritropoetina u cirkulaciji je uslovljena hipoksijom ili razvojem anemije. U uslovima anemije, koncentracija eritropoetina u krvi može da se povisi i do nekoliko stotina puta (15,16). Eritropoetin stimuliše proliferaciju i diferencijaciju eritroidnih progenitora, vezujući se specifično za svoje receptore (EpoR), (17). Istovremeno, kompleks Epo-EpoR sprečava apoptozu eritroblasta povećavanjem ekspresije Bcl-XL i Bcl-2, sledi aktivacija protein kinaze-1, proliferacija eritroidnih ćelija i njihova postepena diferencijacija u zrele eritropoezne ćelije (18-21).

Ekspresija EpoR na površini eritroidnih progenitora zavisi od stadijuma diferencijacije u procesu eritropoeze. Najveći stepen ekspresije EpoR je u kasnoj fazi sazrevanja eritroidnih progenitora, u odnosu na rane eritroblaste (22).

Miyake sa saradnicima (23) izolovao je, 1977. godine, molekul eritropoetina iz 2550 litara urina bolesnika sa aplastičnom anemijom i mapirao sekvence aminokiselina molekula eritropoetina. Na osnovu ovih saznanja, humani gen za Epo kloniran je 1985. godine (24). Humani rekombinantni eritropoetin (rHu Epo) uspešno se primenjuje u lečenju anemije kod bolesnika sa terminalnom bolesti bubrega (ESRD) (15).

Produkcija eritropoetina regulisana je veoma složenom kaskadom događaja, u odnosu na koncentraciju kiseonika u ćelijama. Eritropoetin pretežno sintetišu REPs ćelije koje su smeštene uz peritubularne kapilare bubrega, a hepatociti doprinose blizu 20% u ukupnoj sintezi eritropoetina (25).

Aktivacija transkripcije gena za eritropoetin posredovana je hipoksijom indukovanim faktorom -1 (*engl. hypoxia inducible factors*, HIF-1) (26), čija koncentracija eskponencijalno raste sa opadanjem koncentracije kiseonika u ćelijama (27). Faktor HIF-1 sastoji se od dva osnovna proteinska lanca HIF- α i HIF- β (28). HIF- α i HIF- β subjedinica imaju nekoliko izoformnih oblika, koji su kodirani na različitim genskim lokusima. HIF-1 β je konstitutivno eksprimiran, dok je HIF- α indukovano hipoksijom (29). Postoje tri izoformna oblika HIF- α , pri čemu su HIF-1 α i HIF-2 α međusobno vrlo slični i deluju udruženo, sa elementom odgovora na hipoksiju (*engl. hypoxia responsive element*, HRE) prisutnim u promotoru regiona gena koji odgovaraju na hipoksiju, kao što je vaskularni endotelijalni faktor rasta, kada indukuju transkripciju gena za eritropoetin (30).

U uslovima hipoksije HIF-1 α se translocira u jezgru molekula i povezuje sa β subjedinicom, te nastaje HIF-1 heterodimer koji formira kompleks sa HRE (31).

Eritropoetin utiče na korišćenje gvožđa u eritroidnim progenitorima, povećanjem ekspresije transferinskih receptora na njima (32). Čelije u procesu eritropoeze, na koje deluje eritropoetin, su rani i kasni eritroidni progenitori. Eritroidne kolonije BFU-E sadrže samo nekoliko receptora za eritropoetin (EpoR). Njihovom proliferacijom i daljim sazrevanjem nastaju eritroidne jedinice, koje formiraju kolonije – CFU-E. Ove ćelije imaju najveći broj receptora za eritropoetin, od 500 do 2000 Epo receptora, a predstavljaju poslednji amplifikacioni odeljak eritroidne loze (33). Eritroidne ćelije se sazrevanjem pretvaraju u pro-eritroblaste, a zatim u eritroblaste i na kraju, u eritrocite. Adekvatna produkcija eritrocita može da se ostvari u prisustvu neophodnih elemenata, među kojima je ključna dostupnost gvožđa ćelijama kostne srži. Eritropoetin i receptor za eritropoetin su neophodni za sazrevanje eritrocita. Ukoliko oni nedostaju, eritroidne progenitorske ćelije podležu apoptozi na nivou CFU-E i eritroblasta (18).

U hroničnom oštećenju bubrega sa posledičnom pojavom fibroze, dolazi do poremećene isporuke kiseonika preko vaskularnog sistema i njegove akumulacije u ekstraćelijskom matriksu. Povećana potreba za kiseonikom u oštećenju bubrega, dovodi do povećane vulnerabilnosti svih renalnih ćelija na uslove hipoksije. Anemija u bolesti bubrega kompromituje isporuku kiseonika, te je stanje hipoksije uzrokovano anemijom faktor progresije hronične bubrežne bolesti (34).

Uzimajući u obzir da je glavna funkcija eritrocita transport kiseonika iz pluća u periferna tkiva, ravnoteža između dostupnosti kiseonika i potreba tkiva (tkivna oksigenacija) precizno kontroliše i produkciju eritropoetina u bubrezima, pri čemu je eritropoetin jedini hematopoetski faktor rasta, čija je produkcija regulisana pritiskom kiseonika u tkivima. To je pokazano u fiziološkoj studiji, u kojoj je u uslovima veštački izazvane hipoksije u bubregu miša pokazana povezanost između sekrecije eritropoetina i pritiska kiseonika u tkivima (35). Udaljena tkiva, kao što je koža, potpomažu i uzimaju učešća u regulaciji sinteze eritropoetina, prenoseći signale o stanju spoljašnje hipoksije (36).

1.2. b. Anemija kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi

Još 1987. godine na Evropskoj konferenciji o rHu Epo u Wolfenbuttelu, u Nemačkoj, saopšteno je da se kod bolesnika u terminalnom stadijumu CKD (*engl. End stage kidney disease, ESRD*), koji su zavisni od peritonealne dijalize ili hemodijalize (HD), mogu naći dodatni faktori u sadejstvu nedostatka endogenog eritropoetina, koji zajedno dovode do pogoršanja anemijskog sindroma (37). Kod ovih bolesnika, na razvoj i pogoršanja anemijskog sindroma pored smanjene produkcije endogenog eritropoetina u fibroblastima intersticijuma bubrega, utiču povećana destrukcija eritrocita usled dejstva uremijskih toksina (uremijski milje), disfunkcija trombocita, koja prouzrokuje krvarenje i gubitak krvi (najčešće kao okultno krvarenje), postupak hemodijalize, gubitak krvi u dijalizatoru i dijaliznom setu tokom procedure hemodijalize, hemoliza koja nastaje usled kontaminacije vode za hemodijalizu, kao i gubitak hidrosolubinih vitamina folne kiseline i vitamina B12 preko dijalizne membrane (38).

Takođe, sekundarni hiperparatireoidizam, upotreba vezivača fosfata, brojni komorbiditeti kao što je infekcija ili inflamacija koja je redovni pratilac terminalne CKD, potpomažu razvoj i pogoršaje anemije kod bolesnika na hemodijalizi (38). Kasnija saznanja ukazala su na precenjenost većine navedenih faktora, dok je nedostatak endogenog eritropoetina ključni razlog anemije u CKD (39).

Pokazano je da su smanjena produkcija eritropoetina i nedostatak gvožđa dva neodvojiva glavna razloga usporavanja i prekida diferencijacije i maturacije eritrocita u kostnoj srži i predstavljaju glavne razloge koji dovode do smanjene eritropoeze u bolesnika na dijalizi. Adekvatnost dijalize može direktno da utiče na popravljavanje procesa eritropoeze uklanjanjem iz cirkulacije medijatora koje inhibišu eritropoezu, kao i popravljavanjem raspoloživosti gvožđa (38).

Anemija koja se javlja u okviru terminalne CKD predstavlja važan prediktor morbiditeta i mortaliteta (10,11) i očekivalo se da lečenje anemije rHu Epo povoljno utiče na oporavak bolesnika na hemodijalizi. Odgovor svakog bolesnika na terapiju rHu Epo je individualan i determiniše ga nepovoljno nekoliko faktora:

- nedostatak gvožđa,
- akutna ili hronična infekcija i inflamacija,

- gubitak krvi,
- hiperparatireoidizam,
- nedovoljna dijaliziranost bolesnika (40).

Angiotenzin II direktno povećava proliferaciju eritroidnih progenitora u in vitro uslovima (41,42). Nivoi angiotenzin-konvertirajućeg enzima (ACE) i angiotenzina II su pod uticajem inserciono/delecijskog polimorfizma u intronu 16 ACE gena. Ovaj polimorfizam je odgovoran za 47% varijacija koncentracije ACE enzima u serumu (43). Pokazana je veća potreba za količinom rHu Epo kod bolesnika sa ACE genotipom II za postizanje adekvatne korekcije krvne slike, u odnosu na bolesnike sa DD genotipom na hroničnoj ambulatornoj peritonealnoj dijalizi (44).

Za optimalnu produkciju eritrocita (eritropoeza) neophodno je učešće sledećih faktora: hematopoeznog tkiva u kostnoj srži, dovoljne količine (raspoloživog) gvožđa, folne kiseline i vitamina B12, kao i specifičnih hematopoeznih faktora rasta. Nedostatak Fe prouzrokuje oštećenu i ograničenu eritropoezu kod bolesnika sa hroničnom bolesti bubrega (CKD), koji se nalaze na hroničnom program lečenja hemodijalizama (45-48).

Korekcija statusa feremije redovnom nadoknadom Fe je od ključne važnosti u lečenju anemijskog sindroma u CKD. Svakako opravdano, primena preparata Fe je u porastu, zajedno sa primenom rekombinantnog humanog eritropoetina (49), a preporučeni ciljni hemoglobin (HGB) je korigovan sa 130 na 105-110 g/L, na osnovu utvrđenog bezbedonosnog profila rHu Epo za bolesnike sa CKD (50-52). Aktuelni vodiči lečenja anemije na hemodijalizi (KDIGO protokol) liberalizuju upotrebu Fe kod bolesnika sa CKD (53). Aktuelni dijagnostički testovi za evaluaciju statusa feremije su donekle limitirajući, tumače se i dalje na osnovu kliničkog iskustva, a bezbedonosni profil nadoknade Fe još uvek nije detaljno evaluiran velikim kontrolisanim, randomiziranim studijama (53).

1.3. Promet gvožđa

Gvožđe (Fe) je najzastupljeniji oligoelement u organizmu i esencijalni je konstituent brojnih ključnih enzima i enzimskih sistema (54,55). Gvožđe ulazi u sastav fiziološki važnih molekula, kao što su hemoglobin i mioglobin, kao i mnogih drugih enzima koji

su uključeni u biohemijske procese ćelije: oksidaze, katalaze, peroksidaze, citohromi, akonitaze, ribonukleotid - reduktaze i sintetaze azotnog oksida). Sinteza DNK, RNK i protein, regulacija ekspresije gena, proliferacija i diferencijacija ćelija, transport elektrona i ćelijsko disanje su važni procesi u kojima Fe ima nezamenjljivu ulogu (56,57). Oko 75% endogenog gvožđa prisutno je u obliku nabrojanih aktivnih molekula proteina, dok 25% čine transportni i deponovani oblici Fe. Ukupan sadržaj Fe kod odrasle muške osobe iznosi 35-45 mg/kg telesne mase (58). Oko 3000 mg Fe, koje ulazi u sastav hemoglobina i mioglobina, nalazi se u zrelih eritrocitima u cirkulaciji i eritroidnim prekursorima u kostnoj srži i predstavlja najveći funkcionalni pul gvožđa u organizmu, tzv. funkcionalni depo gvožđa.

Proliferišuće ćelije eritropoeznog tkiva, koje imaju velike zahteve za gvožđem, poseduju i brojna mesta na površini membrane za prihvatanje i vezivanje gvožđa, dok ostale ćelije u organizmu pokazuju različite kapacitete za vezivanje Fe (58,59).

Rezervni pul gvožđa predstavlja gvožđe u ćelijama retikuloendotelno sistema (RES), zajedno sa manjim delom Fe uskladištenim u hepatocitima u obliku teško rastvorljivog hemosiderina i iznosi blizu 1600 mg Fe. Količina gvožđa koje se skladišti u ćelijama RES-a (tokom procesa razgradnje starih eritrocita, denaturacije hemoglobina i recirkulacije gvožđa) zavisi od kapaciteta transferina u plazmi za vezivanjem i popunjenosti gvožđem, tzv. transportno Fe (58,60). Transferinski pul gvožđa u plazmi iznosi samo 0.4 grama, ali se transferinom dnevno prenosi oko 30 – 40 mg gvožđa. Izuzetno brz prenos Fe transferinom omogućava kruženje celokupnog sadržaja Fe u organizmu i do 10-15 puta na dan (55).

Metabolizam gvožđa kod čoveka je virtuelno zatvoren sistem i može se sa sigurnošću reći da se gvožđe čuva u organizmu. Apsorpcija gvožđa preko gastrointestinalnog trakta predstavlja glavni mehanizam kontrole sadržaja gvožđa u organizmu, obzirom da ne postoji poseban mehanizam eliminacije i fiziološki dnevni gubitak Fe iznosi značajnih 1-2 mg. Najčešće se Fe gubi krvarenjem i ljuštenjem ćelija pokrovnog epitela digestivnog trakta. Ovaj gubitak, i pored toga što je relativno mali mora da se nadoknaditi apsorpcijom Fe, koja takođe na dnevnom nivou iznosi 1-2 mg (60). Najveći deo potrebnog gvožđa organizam obezbeđuje recirkulacijom Fe u zatvorenom sistemu između kostne srži, eritrocita, plazme, ćelija RES-a i jetre. Značaj

visoke sofisticiranosti ovog zatvorenog sistema recirkulacije Fe u prometu gvožđa, ogleda se u neobično važnoj potrebi eritropoeznog sistema za gvoždem. Retikuloendotelni sistem čuva veliku količinu gvožđa u rezervnom obliku, a kada se javi potreba za Fe, ono će biti brzo mobilisano prema ćelijama eritropoeznog sistema i tako će se izbeći potencijalna toksična dejstva Fe.

Veliki biološki značaj gvožđa zasniva se na njegovim hemijskim karakteristikama. Naime, Fe postoji u dvovalentnom (fero) i trovalentnom (feri) obliku i ima sposobnost da prima i odaje elektrone, što mu omogućava učestvovanje u oksidoredukcionim procesima ćelije (61). Međutim, olakšavajući stvaranje citotoksičnih slobodnih radikala, gvožđe može da ostvari izrazito toksična dejstva (57,61). Da bi se obezbedile ćelijske potrebe za gvoždem, a istovremeno izbegli njegovi potencijalni toksični efekti, razvijeni su prefinjeni i visokospecijalizovani molekulski mehanizmi odgovorni za apsorpciju, transport i odlaganje Fe u solubilnom, netoksičnom obliku (62,63).

1.3. a. Apsorpcija gvožđa

Gvožđe (Fe) uneto hranom, u najvećem delu se nalazi u okviru metaloporfirina hema ili u obliku trovalentnog feri jona (Fe^{3+}) za čiju je apsorpciju neophodno heliranje u kiseloj sredini želudačnog soka ($pH < 3$), pošto je nerastvorljivo u slabo kiseloj i alkalnoj sredini. Aktivnošću redukcionih faktora (askorbinska kiselina) deo trovalentnog gvožđa može da se redukuje u dvovalentni fero oblik (Fe^{2+}), lako rastvorljiv i u neutralnoj sredini tankog creva (62,63).

Apsorpcija gvožđa odvija se u dvanaestopalačnom i proksimalnom delu tankog creva. Gvožđe uneto hranom je u obliku hema (gvožđe iz namirnica životinjskog mesa) i nehenskog gvožđa (gvožđe koje se nalazi u belom mesu, žitaricama i povrću). I pored dvostruko većeg prisustva neorganskog feri oblika gvožđa u ishrani, dve trećine potreba za gvoždem obezbeđuje se apsorpcijom metaloporfirina hema, najviše zbog njegove dobre rastvorljivosti. Mehanizmi apsorpcije hema nisu do kraja proučeni. Hem ulazi u enterocite endocitozom kao intaktni metaloporfirin, zatim dolazi do otvaranja porfirinskog prstena uz pomoć enzima i oslobađanja jona gvožđa. U stanjima nedostatka gvožđa dolazi do povećanja apsorpcije hema, iako ne u onoj meri u kojoj se povećava apsorpcija neorganskog gvožđa. Pokazano je da nema kompeticije između apsorpcije

hema i slobodnog gvožđa (62,63). Transfer gvožđa iz enterocita u krv i njegov dalji put nije do kraja ispitan, ali su proučeni mehanizmi kojima se u slučajevima nedostatka gvožđa može da pojača apsorpcija gvožđa, odnosno, u slučajevima opterećenja gvožđem, njegova apsorpcija može da se blokira (64).

Nehemsko gvožđe (najčešće feri oblik Fe^{3+}) koje se pod dejstvom želudačne kiseline oslobađa iz unetih namirnica, mora da se pre resorpcije redukuje u fero oblik (Fe^{2+}), pod dejstvom enzima feri reduktaze regulisane gvožđem (duodenalni citohrom b, Dcyb, Cybrd1), koji je prezentovan na apikalnoj strani enterocita i koristi askorbinsku kiselinu kao donor elektrona i na taj način potpomaže redukovanje feri oblika Fe^{3+} u fero oblik Fe^{2+} (65,66).

Redukovano gvožđe se pomoću nespecifičnog dvovalentnog transportera za metale 1 (*engl. divalent metal transporter 1, DMT 1*), simportera za jon vodonika (H^+) i dvovalentne metale koji je smešten na apikalnoj membrani enterocita, prenosi u citoplazmu (65). Nivo ekspresije DMT1 na enterocitima reguliše sadržaj gvožđa u organizmu, prema potrebama organizma (67).

Tokom prenošenja gvožđa kroz feroportinske kanale na bazolateralnoj membrani enterocita odvija se ponovo oksidacija Fe u feri oblik (Fe^{3+}), koja je potpomognuta proteinskim molekulima na membrani fero-oksidadom i hefestinom. Gvožđe u feri obliku +3 vezuje transferin u plazmi, koji vrši snabdevanje gvožđa u čitavom organizmu (68).

Mehanizam apsorpcije hemskog gvožđa je manje poznat i zasniva se na mehanizmu nosača, čiji glavni element čine folatni transporteri (*engl. proton-coupled folate transporter, PCFT*) i nosač hema (*engl. heme carrier protein 1, HCP1*), (69). Degradacija hema i oslobađanje Fe u enterocitima je potpomognuto hem-oksigenazom, koja predaje Fe feroportinskim kanalima (65).

Postoji i treći put resorpcije gvožđa, važan u stanjima nedostatka Fe u organizmu. Ovaj alternativni put resorpcije Fe iz lumena tankog creva u enterocite naziva se put integrin - mobilni ferin (*engl. integrin mobile ferrin patway, IMP*). Trovalentni feri oblik Fe (Fe^{3+}) se redukuje u enterocitima preko paraferitina, koji je membranski enzimski kompleks, posle čega se kreće kao svako drugo gvožđe redukovano u fero

oblik (Fe^{2+}), (66). Navedeni kompleks čine pokretni ferin, β -integrin i flavin monooksigenaza (62).

Stepen apsorpcije gvožđa u enterocitima određen je aktivnošću molekula DMT1 i feroportinskih kanala, svaki sa odgovarajuće – suprotne strane membrane enterocita. Naime, u uslovima smanjenih potreba eritropoeznog aparata za gvoždem i povišenog telesnog sadržaja gvožđa, u jetri se pojačano produkuje inhibitorni peptid hepcidin, koji smanjuje apsorpciju gvožđa u digestivnom traktu. U situaciji povećanih potreba eritropoeznog aparata za gvoždem i niskog sadržaja telesnog gvožđa, produkcija hepcidina u jetri se smanjuje, te dolazi do povećanja apsorpcije gvožđa u digestivnom traktu. Hepcidin je peptidni molekul od 25 aminokiselina, koji se vezuje za feroportin i izaziva degradaciju feroportinskih kanala i na taj način onemogućava prenošenje gvožđa na bazolateralnoj membrani enterocita. Feri-reduktaza Dcytb i DMT1 na apikalnoj membrani eritrocita se istovremeno oštećuju, najverovatnije nagomilavanjem gvožđa, koje je praktično zarobljeno u enterocitima, usled blokiranja feroportinskih kanala hepcidinom. Moguće je da hepcidin ima i direktno dejstvo na Dcytb i DMT1 (70). Fe regulišući protein (*engl. iron regulatory protein, IRP*) / Fe responsivni element (*engl. iron responsive element, IRE*) mehanizam kontroliše posttranskripciono ekspresiju Dcytb, DMT1 i feroportina na membrani enterocita, štiteći enterocite od prenamilovanja, odnosno nedostatka gvožđa u njima. Ovaj mehanizam reguliše efikasan prenos gvožđa kroz citoplazmu enterocita. Takođe, otkriven je i mehanizam brze kontrole prenosa gvožđa kroz enterocite, koji reguliše ekspresiju navedenih molekula na membrani enterocita i predstavlja efikasnu zaštitu od prenamilovanja gvožđa u enterocitima i organizmu (71,72).

1.3. b. Regulacija prometa gvožđa

Pošto se gvožđe unese preko apikalne membrane enterocita, učestvuje u metaboličkim procesima ćelije i može da se dalje transportuje preko bazolateralne membrane enterocita u cirkulaciju ili se uskladišti kao rezervno gvožđe u obliku feritina u enterocitima, vezujući se za protein apoferitin. Iz feritina enterocita Fe ne može da se ponovo aktivira i pređe u cirkulaciju, već se ono eliminiše iz organizma procesom starenja enterocita i njihovom deskvamacijom sa površine sluznice tankog creva.

Ferroportin (*engl. ferroportin 1*, Fpn 1) je jedini do danas poznati eksporter gvožđa koji je zadužen za transport gvožđa iz enterocita u cirkulaciju, prisutan je na bazolateralnoj membrani ćelija duodenuma. Ekspresija Fpn1 je u funkciji nivoa koncentracije gvožđa u ćeliji (73,74). Aktivnost Fpn1 je vezana za membransku ferooksidazu hefestin i potpomognuta je serumskim ceruloplazminom, koji ne učestvuje direktno u transportu gvožđa, već olakšavaju proces transporta Fe, promenom stanja Fe (+2 u +3), (74). Pored bazolateralne membrane enterocita, uočena je ekspresija Fpn1 na makrofazima, ćelijama jetre, bubrega, slezine i placente (73).

Pošto se gvožđe prenese iz enterocita u krv, neposredno posle oksidacije, Fe se vezuje za glikoprotein plazme transferin (Tf) molekulske mase 80 kDa, koji je glavni transporter gvožđa do perifernih tkiva. Jedan molekul Tf može da vezuje jedan ili dva molekula trovalentnog (Fe^{3+}) gvožđa. U cirkulaciji Tf koji se nalazi u slobodnom obliku i ne sadrži gvožđa označava se kao apotransferin (62,63). U fiziološkim uslovima trećina Tf zasićena je gvožđem, dok su ostale dve trećine u cirkulaciji slobodne u obliku apotransferina. Afinitet Tf za vezivanje gvožđa zavisi od pH krvi (koncentracije vodonokovih jona). Što je veća kiselost, afinitet za vezivanje Tf opada i dolazi do odvajanja gvožđa od Tf (63).

Uloga Tf je transport gvožđa do svih tkiva, održavajući Fe u njegovom izvornom trovalentnom feri obliku (Fe^{3+}), sprečavajući na taj način eliminaciju gvožđa preko bubrega i jetre. Istovremeno se ograničava učešće gvožđa u generisanju reaktivnih oblika kiseonika (slobodnih kiseoničnih radikala). U fiziološkim uslovima oko 30% Tf je zasićeno gvožđem. Procenat zasićenja Tf gvožđem manji od 16% govori u prilog nedostatka gvožđa, dok zasićenje Tf veće od 45% je u prilog opterećenja Fe. U stanju saturacije Tf gvožđem preko 60%, gvožđe oštećuje parenimske ćelije (hepatocyte) generisanjem slobodnih radikala kiseonika i oksidacionim reakcijama (66,68,75).

1.3. b. 1. Promet gvožđa na nivou ćelije

Gvožđe ulazi u ćeliju u organizmu endocitozom, internalizacijom Tf vezanog za transferinski receptor (TfR, CD71). TfR je transmembranski protein, homodimer glikoprotein ekspimiran na membrani ćelija, čiji je poluživot oko 30 sati. Svaki monomer TfR vezuje jedan molekul Tf i započinje proces endocitoze. Subtip TfR koji

specifično učestvuje u preuzimanju gvožđa označava se TfR tip 1 (63). Na ćelijskoj membrani molekuli TfR1 se nakupljaju u šupljinama koje su obložene klatrinom (*engl. clathrin coated pit*), što omogućava endocitozu kompleksa Tf-TfR1 formiranjem vezikule obložene klatrinom (*engl. clathrin coated vesicle*). Pošto prođu kroz ćelijsku membranu, u citoplazmi vezikule sa Tf-TfR1 se spajaju sa endozomom u kome se pod uticajem kisele sredine (pH ~ 5.5) gvožđe odvaja od Tf. Transferin bez gvožđa (apotransferin) ostaje vezan za TfR1. Gvožđe se zatim transportuje preko transportera za metale (DMT-1/ Nramp2), (76,77).

Kompleks TfR1-apotransferin se ponovo vraća transportnim vezikulama kroz membranu u krv, gde se u uslovima normalne pH (pH oko 7.4) apotransferin odvaja od TfR1, a na njegovo mesto se povezuje drugi molekul Tf zasićen gvoždem. Oslobođeni apotransferin se ponovo vezuje za molekul gvožđa i nastaje Tf spreman za vezivanje za TfR1 i tako se ciklus ponavlja (78).

Pouzdan marker smanjene rezerve gvožđa u organizmu je koncentracija solubilnog TfR1 u serumu. Povećan nivo TfR1 u serumu predstavlja marker funkcionalnog nedostatka gvožđa. Obrnuto, koncentracija TfR1 opada na minimalne vrednosti u porastu depoa gvožđa, tj. nivoa feritina u situaciji nagomilavanja gvožđa. Odnos TfR1/feritin u serumu je u brojnim studijama prikazan kao jedan od najpouzdanijih markera stepena poremećaja prometa gvožđa u organizmu (79).

1.3. b. 2. Uskladištenje gvožđa

U ćeliji gvožđe se koristi u procesu sinteze specifičnih proteina, pre svega hemoglobina ili se Fe u višku uskladišti u obliku feritina, a u manjoj količini u obliku teže rastvorljivog hemosiderina (66). Depoi gvožđa u obliku feritina nalaze se u jetri, slezini i kostnoj srži. Izvesna mala količina feritina nalazi se u krvnoj plazmi, koja služi kao dobar pokazatelj depoa gvožđa u organizmu.

1.4. Poremećaj prometa gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi

Većina bolesnika na hroničnoj hemodijalizi razvije nedostatak gvožđa. Uobičajeno, procenjeni gubitak gvožđa postupkom hemodijalize iznosi 1-3 grama godišnje (80,81).

Takođe, kod bolesnika na hemodijalizi, usled uvećanih potreba koje nastaju ubrzanom potrošnjom i pražnjenjem depoa gvožđa u uslovima pojačane eritrocitopoieze stimulisane primenjenim rHu Epo u lečenju anemije, posledično dolazi do apsolutnog nedostatka gvožđa.

Uočena su tri važna mehanizma kojima se objašnjava često razvijanje nedostatka gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi:

1. poremećena apsorpcija gvožđa u enterocitima,
2. gubitak krvi na hemodijalizi,
3. funkcionalna deficijencija gvožđa (82).

1.4. a. Poremećena apsorpcija gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi

Apsorpcija gvožđa iz gastrointestinalnog trakta je kontrolisana nivoom gvožđa u organizmu u obliku rezerve raspoloživog gvožđa i eritropoetinom, tj. stepenom eritrocitopoieze (83). Najveći deo gvožđa unetog preko digestivnog trakta resorbuje se u dvanaestopalačnom crevu i proksimalnom delu tankog creva, a regulacija stepena apsorpcije je u skladu sa količinom unetog gvožđa i tzv. unutrašnjeg faktora: eritropoetska aktivnost, funkcionalni kapacitet mukoze digestivnog trakta i nivo rezervnog gvožđa u tkivima (84). Gvožđe uneto hranom, osim hemske gvožđe, redukuje se u fero oblik Fe^{2+} , i vezuje se molekulima helata u velike molekulske mase. Najpovoljniji izvor fero oblika (Fe^{2+}), tzv. hemske gvožđe je u crvenom mesu (84). Stroge dijetetske preporuke bolesnicima sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom, kao i kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, dovode do slabijeg unosa najoptimalnijeg oblika gvožđa, koji bi organizam mogao da najlakše iskoristi. Stepem apsorpcije gvožđa kod zdravih ljudi, odnosno, sa očuvanom bubrežnom funkcijom je relativno nizak, blizu ili manje od 1 mg Fe dnevno. Apsorpcija gvožđa raste sa ubrzavanjem procesa eritrocitopoieze sa posledičnim padom rezervi gvožđa u organizmu (83).

Postoje oprečni podaci u literaturi u vezi sa različitim uticajem faktora na apsorpciju gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi. Prema pojedinim autorima proces apsorpcije gvožđa kod ovih bolesnika nije oštećen (85,86), dok druge studije pokazuju da je preuzimanje gvožđa u enterocitima oštećeno. Pojačan gubitak gvožđa je utvrđen

pojedininim studijama, u kojima je praćena kinetika gvoŹda kod bolesnika na hroniãnoj hemodijalizi (87).

Ćesto bolesnici na hemodijalizi imaju visoke vrednosti feritina, koje ne odslikavaju aktuelne rezerve gvoŹda, odnosno bolesnici imaju deficijenciju gvoŹda. Upravo u ovim situacijama zbog poremećene osovine povratne sprege u prometu gvoŹda izostaje povećanje stepena apsorpcije gvoŹda, uprkos aktuelnom nedostatku gvoŹda (88).

1.4. b. Gubitak gvoŹda na hroniãnoj hemodijalizi

Nekoliko poznatih razloga koji doprinose povećanom gubiku Fe kod bolesnika na hroniãnoj hemodijalizi su, pre svega, gubitak krvi prilikom svake kanulacije vaskularnog pristupa, odnosno, prilikom vađenju igala za hemodijalizu, zaostajanje odrećena kolićine krvi u dijalizatoru, sistemu krvnih linija tokom i posle svakog dijaliznog tretmana, ĉesto vađenje krvi zbog kontrole odrećenih parametara i okultnim krvarenjem iz gastrointestinalnog trakta (82). Uobićajen gubitak gvoŹda na hemodijalizi iznosi 1-3 g godišnje (80,81).

Što je veći terapijski efekat stimulacije rHu Epo u smislu povećanja vrednosti hematokrita, veći je gubitak gvoŹda sa svakim mililitrom izgubljene krvi, zbog većeg procenta gubitka eritrocita u situaciji povišenih vrednosti hematokrita kod bolesnika na hemodijalizi (82).

Radna grupa za protokol lećenja anemije kod bolesnika na hemodijalizi Svetkog udruženja nefrologa K/DOQI (*engl. Dialysis outcomes quality initiative*) preporućuje da bi kod bolesnika na hroniãnoj hemodijalizi trebalo nadoknaćivati 25-100 mg gvoŹda nedeljno, u cilju korekcije navedenih faktora, koji dovode do gubitka gvoŹda tokom hemodijalize (7).

1.4. c. Nedostatak gvoŹda kod bolesnika na hemodijalizi

Kod bolesnika koji se nalaze na hroniãnom programu hemodijalize nedostatak gvoŹda moŹe biti:

1. Apsolutni nedostatak gvoŹda,
2. Funkcionalni nedostatak gvoŹda (82, 89),

3. Retkiuloendotelijelni blok, tzv. hepcidinom indukovana deficijencija gvožđa (90).

Apsolutni nedostatak gvožđa označava nesklad između nedovoljnog ukupnog sadržaja gvožđa u organizmu i potrebe za pojačanom eritrocitopoezom u anemiji, u uslovima terminalne CKD. Ukazuje na nedostatak određene količine Fe kod bolesnika na hemodijalizi. Ovaj nedostatak se uobičajeno dijagnostikuje uz pomoć dva laboratorijska testa, nivoa serumskog feritina < 200 ng/mL i procentom saturacije transferina gvožđem (TSAT) $< 20\%$ (91).

Funkcionalni nedostatak gvožđa predstavlja nemogućnost brze mobilizacije telesnih depoa gvožđa, kako bi se zadovoljile povećane potrebe kostne srži i eritropoeznog aparata u procesima produkcije eritrocita, iako je optimalan sadržaj gvožđa u organizmu. Funkcionalni nedostatak gvožđa je najznačajniji razlog neadekvatnog odgovora na terapiju rHu Epo. Funkcionalni nedostatak gvožđa karakteriše izostanak adekvatnog porasta vrednosti hemoglobina na stimulaciju rHu Epo (tzv. rezistencija na Epo). Nivo serumskog feritina je normalan ili povećan, dok saturacija transferina TSAT ostaje manja od 20% (92).

Retikuloendotelijalni blok (Hepcidinom indukovani nedostatak Fe) karakteriše se niskim nivoom serumskog gvožđa, povišenim vrednostima kapaciteta za vezivanje gvožđa, niskom saturacijom transferina (TSAT), visokim sadržajem gvožđa u makrofazima kostne srži i povišenim vrednostima feritina u serumu, što zajedno ukazuje na poremećenu mobilizaciju gvožđa iz telesnih depoa (90).

1.5. Markeri prometa gvožđa i testovi za procenu poremećaja prometa gvožđa

Nedostatak gvožđa predstavlja glavnu odrednicu efikasnosti primene i uspeha lečenja anemije rHu Epo. Ključno pitanje koje se postavlja tokom primene rHu Epo jeste pravilno dijagnostikovanje nedostatka gvožđa praćenjem statusa feremije i pravilna primena, odnosno, nadoknada gvožđa. Najvažniji razlog za loš odgovor na terapiju rHu Epo u konkretnoj situaciji je sa sigurnošću neuspeh pravilne nadoknade gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi. Bolesnici koji dobijaju rHu Epo na dijalizi imaju veće potrebe za nadoknadom gvožđa, kako bi pratili povećane zahteve kostne srži stimulisane rHu Epo u aktivnoj ubrzanoj eritropoezi. Bolesnici u terminalnom stadijumu

CKD koji pate od apsolutnog ili funkcionalnog nedostatka gvožđa zahtevaju manje mesečne doze rHu Epo, ukoliko im se pravilno nadoknadi nedostatak gvožđa.

Ukoliko nadoknada gvožđa u bolesnika na hemodijalizi nije pravilno sprovedena, odgovor na rHu Epo nije adekvatan, tako da nedostatak gvožđa predstavlja glavni razlog neuspeha terapije rHu Epo u cilju korekcije anemije kod bolesnika na hemodijalizi (93). Dijagnostikovanje nedostatka gvožđa kod ovih bolesnika je često teško, obzirom da ne postoji pouzdan niti siguran marker kliničkog statusa feremije (40).

Aktuelni vodiči dobre kliničke prakse razvili su algoritam biohemijskih parametara koji su potencijalno korisni u otkrivanju i terapiji nedostatka gvožđa kod bolesnika koji su na hemodijalizi (7,91,93). Serumsko gvožđe, feritin i saturacija transferina (TSAT) korišćeni su dugo godina kao glavni markeri raspoloživosti gvožđa u organizmu. Tokom više godina primene ovih markera primećeno je da nivo serumskog gvožđa pokazuje dnevne varijacije, sa visokom koncentracijom u kasnim dnevnim satima, kao i da može da dostigne i normalne vrednosti posle uzimanja hrane bogate mesom, odnosno peroralnih preparata Fe. Takođe, vrednosti serumskog gvožđa su promenljive u odnosu na metod određivanja, zbog prisustva hemolize. Oralna kontraceptivna sredstva su poznata da podstiču povećanje transferina u serumu, što dovodi do neadekvatno niske saturacije transferina.

Serumski feritin, kao marker sadržaja gvožđa u organizmu, značajan je marker procene nedostatka gvožđa, odnosno marker za procenu efikasnosti nadoknade gvožđa. Apsolutni nedostatak gvožđa definiše se nivoom serumskog feritina nižeg od 15 ng/mL za muškarce i nižeg od 10 ng/mL za žene, u zdravoj populaciji (95). Kod bolesnika sa CKD iskustveno se zna da su vrednosti serumskog feritina u apsolutnom nedostatku gvožđa značajnije veće, usled prisustva hronične inflamacije, koja *per se* povećava nivo serumskog feritina. Donja granica vrednosti serumskog feritina od 100 ng/mL se nije pokazala dovoljno senzitivnom i specifičnom (7,96), te je kod bolesnika u preterminalnim stadijumima CKD kao referentna donja granična vrednost uspostavljena koncentracija feritina od 100 ng/mL, a kod dijaliznih bolesnika uspostavljena je donja granična referentna vrednost feritina od 200 ng/mL seruma, dok gornja granična referentna vrednost serumskog feritina kod ovih bolesnika još nije precizno određena

(96). Visoke vrednosti serumskog feritina >500 ng/mL kod bolesnika na hemodijalizi ukazuju na moguću inflamaciju, infekciju, malnutriciju, malignitet, a ne jedino na preterano nagomilavanje gvožđa (97). Literaturni podaci pokazuju da u preko 90% bolesnika čija je vrednost serumskog feritina >300 ng/mL i do blizu 100% bolesnika sa vrednostima serumskog feritina $>500-600$ ng/mL, ne postoji nedostatak gvožđa (98,99). Aktuelni svetski vodiči preporučuju gornju referentnu vrednost za nivo serumskog feritina kod bolesnika na hemodijalizi od 500 ng/mL, kako bi se izbegle potencijalne opasnosti preterane terapije gvožđem (7, 94). Obzirom da kod bolesnika koji imaju hemohromatozu i serumski nivo feritina <1000 ng/mL ne postoje dokazi o razvijenom oboljenju jetre (100), ne očekujemo da se kod bolesnika sa CKD i serumskim feritinom >500 ng/mL razvila lezija jetre izazvana gvožđem. Smatra se da je inflamacija glavni razlog izrazito povišenih vrednosti serumskog feritina kod bolesnika na hemodijalizi (97). U SAD skoro polovina bolesnika koji su na hemodijalizi ima vrednosti serumskog feritina >500 ng/mL, a prema podacima iz literature nema statistički značajnog povećanja broja smrtnih ishoda bolesnika na dijalizi sa serumskim feritinom >1200 ng/mL (101), te u svetskim vodičima još nije usaglašena preporučena gornja granična vrednost serumskog feritina za bolesnike na hemodijalizi (102).

Nedostatak gvožđa takođe je praćen sniženim vrednostima gvožđa u serumu i sniženom saturacijom transferina (TSAT), kao i povišenim eritrocitnim indeksima (procenat hipohromnih eritrocita i sadržaj hemoglobina u retikulocitima), povećanom koncentracijom slobodnog protoporfirina, ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (*engl. total serum iron binding capacity, TIBC*) i solubilnog transferinskog receptora (sTfR), (103).

Savremeni analizatori krvi omogućavaju pojedinačnu analizu eritrocita ili retikulocita, kako njihovog volumena tako i sadržaja hemoglobina. Prema literaturnim podacima samo 20-30% bolesnika koji imaju srednju zapreminu eritrocita (*engl. mean cell volume, MCV*) <75 fL nemaju nedostatak gvožđa, dok je kod bolesnika u kojih je $MCV >95$ fL mala verovatnoća da postoji nedostatak gvožđa (104).

Saturacija transferina gvožđem (TSAT) označava relativni odnos vrednosti gvožđa u serumu i totalnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC) i predstavlja meru gvožđa u cirkulaciji, sa normalnim vrednostima od 16-40%. Kod bolesnika sa

nedostatkom gvožđa TSAT iznosi 15%, i manje. Vrednost TSAT je sklona čestim varijacijama u zavisnosti od fluktuacije vrednosti serumskog gvožđa i transferina i može biti poremećen nutricionim statusom. Vrednost TSAT opada u stanjima akutne i hronične inflamacije, kada reflektuje, ranije pominjani, funkcionalni nedostatak gvožđa kod bolesnika sa CKD (TSAT <20%), a normalne ili povišene vrednosti feritina. Neophodno je napomenuti da normalne vrednosti feritina a TSAT >20% ne isključuju nedostatak gvožđa (105).

U svetlu široke primene rHu Epo, početna iskustva kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi u odnosu na zdrave bolesnike su pokazala da sa peroralnom suplementacijom gvožđa povećanje eritropoezne aktivnosti stimulacijom sa rHu Epo ne može biti postignuto, te dolazi do razvoja insuficijentne eritropoeze usled nedostatka (raspoloživog) gvožđa. Pod uticajem terapije rHu Epo snižava se serumsko gvožđe, dolazi do desaturacije transferina na vrednosti TSAT ispod 16% i to dovodi do tzv. oštećene eritropoeze usled nedostatka gvožđa (106-108).

1.5. a. Novi markeri prometa gvožđa

Diskrepanca između dostupnosti i potreba kostne srži za gvožđem definiše se kao funkcionalni nedostatak gvožđa i to dovodi do oštećene eritropoeze usled nedostatka gvožđa i neophodno je da se brzo definiše i koriguje, pre svega, promenom doze rHu Epo i supstitucijom gvožđa sa preporukom primene intravenskog gvožđa, posle čega se očekuje poboljšanje hematološkog odgovora na terapiju rHu Epo (108).

Vrednosti koncentracije serumskog feritina su u određenim stanjima povišene nezavisno od depoa gvožđa u organizmu, kao u hipertireoidizmu, inflamaciji ili infekciji, hepatocelularnim bolestima, malignitetima, hroničnom alkoholizmu, te kod upotrebe oralnih kontraceptivnih sredstava. U ovim i sličnim stanjima kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, koji imaju vrednosti serumskog feritina 200-1000 ng/mL česte su nedoumice u vezi sa nadoknadom gvožđa i odlukom za pravilan tretman anemije. Primenjuje se prošireni set hematoloških parametara, niz eritrocitnih i retikulocitnih indeksa, kao što su procenat hipohromnih eritrocita i sadržaj hemoglobina u retikulocitima (CHr), koji daju bolji uvid o raspoloživosti gvožđa u kostnoj srži i utilizaciji gvožđa u kostnoj srži.

Još od 1992. godine određivanje procenta hipohromnih eritrocita (HRC) koristi se kao marker funkcionalnog nedostatka gvožđa kod bolesnika na dijalizi koji su na terapiji rHu Epo (109). Nizak HRC <1% utvrđen je kod bolesnika koji su preopterećeni gvoždem, dok su hipohromni eritrociti >22% utvrđeni kod bolesnika sa teškim nedostatkom gvožđa (106). Terapija bolesnika sa rHu Epo, a bez prateće nadoknade gvožđa, dovodi do skoka procenta hipohromnih eritrocita preko normalnog nivoa, kao znak izraženog pražnjenja depoa gvožđa. Posle davanja gvožđa vrlo brzo dolazi do normalizovanja njihovog procenta (106). Prema nekim autorima HRC >6% predstavlja najbolji raspoloživi marker kojim se može pratiti kretanje hemoglobina kod bolesnika na dijalizi koji dobijaju rHu Epo i na nadoknadi su gvoždem (110). Na kretanje procenta hipohromnih eritrocita inflamacija ima značajnog uticaja. U inflamaciji HRC reflektuje zajednički obim depoa gvožđa i inflamaciju, kao i uticaj rHu Epo na raspoloživo gvožđe kod bolesnika na dijalizi (111).

Procenat hipohromnih eritrocita (HRC) i ćelija sa srednjom koncentracijom hemoglobina (MCHC) manjim od 280 g/L mogu da pokažu neposredni razvoj nedostatka gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, kao i funkcionalni nedostatak gvožđa kod zdravih osoba koji su tretirani rHu Epo (106,107). Tehnički nedostaci ovog markera su vezani za njegovu osetljivost na promene temperature, kao i način čuvanja uzorka (tokom vremena eritrociti sedimentiraju, MCHC se snižava, HRC raste), kao i komplikovana tehnika njihovog određivanja (112).

Idealan marker funkcionalnog nedostatka gvožđa bi trebalo da bude nezavistan od eritropoezne aktivnosti, te se danas indeksi nezrelih eritrocita, kao novi markeri raspoloživosti gvožđa dovode u prvi plan (113). U retikulocitne indekse ubrajamo (114,115):

- apsolutni broj i procenat retikulocita (Rtc)
- srednji volumen retikulocita (MCVr ; izražen u fL),
- sadržaj HGB u retikulocitima (CHr; izražen u pg/ćelija),
- zrelost i nezrelost retikulocita.

Broj retikulocita u perifernoj krvi predstavlja kvantitativnu meru eritropoeze u kostnoj srži, dok **retikulocitni indeksi** predstavljaju markere retikulocita u realnom vremenu. Koncentracija hemoglobina u retikulocitima direktno odražava sintezu

hemoglobina u kostnoj srži i prava je mera adekvatnosti depoa gvožđa. Bolji je pokazatelj deopa gvožđa nego koncentracija gvožđa u serumu, koji predstavlja grubu procenu gvožđa u retikuloendotelnom sistemu (116).

Zastupljenost retikulocita u perifernoj krvi koristi se u proceni stepena efektivne eritropoeze u kostnoj srži, a može se prikazati kao apsolutni broj retikulocita i kao procenat retikulocita od ukupnog broja eritrocita (115). Referentne vrednosti procenta retikulocita su 0.5-1.5% (117). Povećan broj retikulocita odslikava aktuelnu ili skorašnju produkciju eritrocita, koja može biti pokrenuta skorašnjim krvarenjem, hemolizom ili kao odgovor na suplementaciju gvožđa, vitamina B12, folne kiseline, na terapije rHu Epo ili u oporavku kostne srži posle hemioterapije ili transplantacije (118). Smanjen broja retikulocita (procenta retikulocita) može biti usled deficijencije gvožđa, vitamina B12, folne kiseline ili je posledica nedostatka endogenog eritropoetina (u CKD), u aplastičnoj anemiji ili je izazvan zračnom terapijom (118).

Sadržaj hemoglobina u retikulocitima (CHr) je mera hemoglobina u retikulocitima (nezrelim eritrocitima), koji predstavljaju mlade eritrocite stare 1-2 dana. Sadržaj hemoglobina u ovim ćelijama je validan marker dostupnosti gvožđa kostnoj srži za ugradnju u nove eritrocite (119,120). Iz kliničkih razloga, procena raspoloživosti gvožđa kostnoj srži na osnovu vrednosti CHr je korisnija u odnosu na procenu sadržaja gvožđa u svim eritrocitima, obzirom na dug životni vek eritrocita u cirkulaciji do 120 dana i prisustvo eritrocita različite starosti jedan do 120 dana u krvi. Bazične vrednosti CHr i nezrelih retikulocita kao i njihova varijacija posle 2-4 nedelje intravenske terapije gvoždem govori u prilog da je moguće brzo pravilno uočiti nedostatak gvožđa na osnovu snižene vrednosti CHr (<29 pg/ćeliji), sa senzitivnošću 96% i specifičnošću od 100% (120).

Sadržaj hemoglobina u retikulocitima (CHr) je marker statusa feremije i predstavlja rani prediktor odgovora na terapiju nadoknade gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi (121,122). Normalne vrednosti CHr kod zdravih su 26 pg/ćeliji, a kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi 27,5±2,8 pg/ćeliji (122). Prema literaturnim podacima bolesnici koji imaju vrednost CHr<29 pg/ćeliji imaju eritropoezu sa izraženim nedostatkom gvožđa (119). Bolesnici kojima se nadoknadi gvožđe i pri vrednostima CHr manjim od 32 pg/ćeliji imaju smanjenu potrebu za primenom rHu Epo (123). Nekoliko literaturnih

saopštenja govori o broju retikulocita, kao i ostalim retikulocitnim indeksima u predikciji i praćenju odgovora na terapiju rHu Epo. Odgovor na terapiju rHu Epo može biti pokazan merenjem promene nivoa hemoglobina (HGB) i promene broja retikulocita 4 nedelje posle otpočinjanja terapije. Porast u nivou HGB za ≥ 10 g/L i/ili promena u apsolutnom broju retikulocita $\geq 40 \times 10^9$ ukazuje da se radi o “*responderu*“ na rHu Epo (124). Obzirom da je 18-36 h potrebno da se novi retikulociti otpuste u cirkulaciju i da sazru u zrele eritrocite, studije o retikulocitnim indeksima u cilju procene raspoloživosti gvožđa i odgovora eritropoeznog aparata na terapiju rHu Epo su pokazale da su ovi indeksi korisni i da mogu da govore o funkcionalnom statusu kostne srži u realnom vremenu. Posle 48 h od primene IV gvožđa dolazi do oporavka vrednosti koncentracije hemoglobina u retikulocitima i to je koristan parametar kada se počinje nadoknada gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi. Bolesnici na hroničnoj hemodijalizi koji imaju HRC $>6\%$ i CHr ≤ 29 pg/ćeliji se smatraju responderima na parenteralnu terapiju gvožđa (111).

Sadržaj hemoglobina u retikulocitima (CHr) je u prednosti za procenu deficijentne eritropoeze usled nedostatka gvožđa, u odnosu na markere feritin i saturacija transferina gvožđem (TSAT), koji su slabije pouzdani u stanjima hronične uremije zbog čestih infekcija i inflamacije u uremijskom miljeu. Sa druge strane, određivanje CHr je višestruko korisno u proceni odgovora na terapiju IV Fe, kao i u izbegavanju rizika od preteranog nagomilavanja gvožđa. Supstitucija gvožđa prevenira stvaranje hipohromnih retikulocita, povećanjem koncentracije hemoglobina u retikulocitima (125). Određivanje CHr ima prednosti kod dijaliznih bolesnika u odnosu na ostale parametre feremije (123,126), ne samo kao visoko specifičan marker odgovora na suplementaciju IV gvožđa, već je veoma pouzdan marker procene oporavka prometa gvožđa i odgovora na peroralnu supstituciju gvožđa (127).

Solubilni transferinski receptor (sTfR) sastoji se iz dve identične subjedinice (dimer glikoproteina) koje služe za vezivanje molekula transferina. Transferinski receptori imaju najveću ekspresiju na eritroidnim prekursorima u kostnoj srži, koji imaju veliku potrebu za gvožđem tokom procesa sinteze hema i ovi sTfR čine 3/4 ukupne količine sTfR (65,66). Postoje dve izoforme transferinskih receptora, TfR1 (prisutan na svim tipovima ćelija) i TfR2 (na hepatocitima, eritroidnim ćelijama u

kostnoj srži i ćelijama tankog creva), (128). TfR1 vezuje kompleks transferina i gvožđa Fe²⁺ (Tf-Fe²⁺-TfR1) u šupljinama na ćelijama koje su obložene klatrinom, što omogućava endocitozu nastalih vezikula obloženih klatrinom, koja sadrži gvožđe i koja se pod uticajem niskog pH (pH 5.5) na drugoj strani ćelije raspadaju ispuštajući dva molekula gvožđa, te se transferin bez gvožđa (apotransferin) zajedno sa TfR1 vraća na površinu ćelije (76,77). Povišen nivo TfR1 u serumu, odnosno njegovog vanćelijskog dela koji se može enzimski odvojiti sa ćelijske membrane, pouzdan je marker smanjene rezerve gvožđa. U funkcionalnom nedostatku gvožđa u organizmu u uslovima povećanog sadržaja gvožđa dolazi do povećanja nivoa feritina u serumu, dok je koncentracija sTfR1 minimalna. Odnos koncentracija navedenih molekula TfR1 i feritina u serumu (TfR1/feritin) predstavlja, prema većini autora, najosetljiviji i najpouzdaniji indeks poremećaja prometa gvožđa u organizmu (79).

Afinitet sTfR2 prema transferinu je znatno manji, a sadržaj intraćelijskog gvožđa nije glavni regulator ekspresije sTfR2 na ćeliji, i obzirom da ne poseduje informacionu RNK, sTfR2, ne poseduje ni IRE (*engl. iron responsible elements*) sekvence (129, 130).

U akutnom zapaljenju nema značajnih promena u sTfR, koji i u tim stanjima reflektuje status eritropoeze, ali ne detektuje i raspoloživost gvožđa kod bolesnika na dijalizi koji su na terapiji rHu Epo (131). Kada se kod bolesnika na hemodijalizi uoče povećane vrednosti sTfR, mora se diferencirati nedostatak gvožđa od povećane eritroblastne aktivnosti pod uticajem rHu Epo (105). Ekspresija TfR1 će se povećati na membrani eritroblasta u kostnoj srži kada dođe do nedostatka gvožđa. Kod bolesnika kod kojih je eritropoeza pojačana pod dejstvom eritropoetina, a ne dobijaju dovoljnu količinu gvožđa (odnosno količina raspoloživog gvožđa nije dovoljna), povećaće se toliko ekspresija TfR1, da će deo receptora biti detektabilan u cirkulaciji. Dakle, ekspresija sTfR1 u cirkulaciji je i marker povećane eritropoeze. Terapija bolesnika sa rHu Epo dovodi do povećanja ukupne mase eritroidnih progenitora, što takođe dovodi do povećane ekspresije sTfR1. U situacijama povišene ekspresije sTfR1, dakle, moguće je da se radi o povećanju sTfR1 usled terapije rHu Epo, deficijenciji gvožđa ili se radi o ubrzanom procesu eritropoeze.

Indeks odnosa nivoa receptora za transferin prema feritinu seruma (*Transferrin receptor – ferritin index*) značajan je u diferencijalnoj dijagnozi nedostatka gvožđa i predviđanju odgovora na parenteralnu nadoknadu gvožđa (132). Odnos serumskog transferinskog receptora (sTfR) i serumskog feritina (TfR1/feritin, R/F odnos), pokazuje odličine karakteristike u proceni depoa gvožđa u organizmu (133,134). Poslednje studije pokazuju da je ovaj odnos pouzdaniji u odslikavanju realne situacije stanja raspoloživosti gvožđa (depoa) iskazanih u mg/kg telesne mase. Promene vrednosti R/F odnosa reflektuju apsorpciju gvožđa, kao i stvarno povećanje depoa gvožđa u organizmu posle pororalne suplementacije gvožđa. U stanjima infekcije ili inflamacije, neadekvatno su niske koncentracije serumskog gvožđa i transferina, kao i nerealno visoke koncentracije feritina u serumu, te R/F odnos (TfR1/feritin) nije od značaja, slično je u bolestima jetre, te se preporučuje da se kod bolesnika isključi moguća inflamacija pomoću nivoa C-reaktivnog proteina u serumu (CRP), pre procene prometa gvožđa na osnovu R/F odnosa (134).

Cink protoporfirin (ZPP, $\mu\text{mol/mol}$ hema) je dopunski marker dostupnosti funkcionalnog Fe kostnoj srži, odnosno, služi za evaluaciju prometa gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi sa preporukom za praćenje bolesnika na IV supstituciji gvožđa. Povećanje cink protoporfirina u krvi je u stanjima smanjene produkcije hema i smatra se pouzdanim markerom da se eritropoeza odvija u deficijenciji Fe (135,136).

Odavno je prepoznato da povećani sadržaj cinka u protoporfirinu eritrocita ukazuje na manjak hema (136). U završnim stadijumima sinteze hema, gvožđe se ugrađuje ferohelatazom u prsten protoporfirina IX i nastaje hem, a povezivanjem hema sa globinom nastaje hemoglobin (137). ZPP je senzitivniji ali ne i specifičan marker nedovoljne količine raspoloživog Fe u kostnoj srži. Ne samo u stanjima kada organizam sadrži manjak gvožđa (deficijencija Fe), već i u infekciji/inflamaciji, ili u intoksikaciji (inhibicija ferohelataze) cink zamenjuje gvožđe u protoporfirinu. Normalne vrednosti ZPP su $\leq 40 \mu\text{mol/mol}$ hem kod osoba koje nemaju deficijenciju gvožđa (138). Vrednosti ZPP veće od $40 \mu\text{mol/mol}$ hem (139) kao i $>80 \mu\text{mol/mol}$ hem (140,141), visoko su senzitivne za značajnu funkcionalnu deficijenciju gvožđa, a vrednosti ZPP $>90 \mu\text{mol/mol}$ hem se nalaze kod bolesnika u terminalnoj bubrežnoj bolesti (ESRD),

(142). Porast graničnih vrednosti ZPP u CKD se objašnjava činjenicom da se u anemiji kod hronične bolesti često nalaze snižene vrednosti feremije i TSAT (143), te niske vrednosti rezervnog Fe feritina mogu da redukuju raspoloživost gvožđa za sintezu gvožđa i dovedu do porasta ZPP.

Značaj ZPP u predikciji odgovora na parenteralnu terapiju gvožđa kod adultnih bolesnika na hroničnoj hemodijalizi opisuju dve studije sa različitim nalazom, prva Fishbanea i sar (144) na 125 hemodijaliznih bolesnika iz 1995. godine i druga Tessitore i sar (111) na 62 bolesnika iz 2001. godine. Obe studije pokazuju sličanu pouzdanost ZPP i feritina u proceni odgovora na IV terapiju gvožđa kod hemodijaliznih bolesnika. Kada je reč o poređenju ZPP i TSAT postoje razlike. Studija Fishbanea i sar (144) pokazala je veću specifičnost i senzitivnost ZPP u poređenju sa TSAT (144), dok u kasnijoj studiji Tessitore i sar (111) nije potvrđena značajna prednost ZPP ili feritina prema TSAT u proceni odgovora na IV gvožđe. Međutim, oni nalaze da u kombinaciji ZPP > 52 $\mu\text{mol/mol}$ hem sa hipohromnim eritrocitima (%HRC) > 6% bolje odlikavaju deficijenciju Fe, u odnosu na kombinaciju TSAT < 20% i/ili feritin < 100 ng/mL kod bolesnike na hemodijalizi i IV supstituciji Fe.

1.6. Kardioresnalni sindrom i renokardijalni sindrom

Bubrežnu slabost često prati srčana insuficijencija i srčanu slabost često prati bubrežna insuficijencija. Udruženost srčane i bubrežne insuficijencije se u kliničkoj praksi naziva kardioresnalni sindrom (145). Ronco i sar (146) su podelili kardioresnalni sindrom u 5 grupa, prema glavnom (primarnom) patološkom događaju.

Tip I: Akutni kardioresnalni sindrom (akutna kardijalna disfunkcija vodi u akutno oštećenje bubrega), Tip II: Hronični kardioresnalni sindrom (hronična srčana slabost vodi u oštećenje bubrega), Tip III: Akutni renokardijalni sindrom (akutno oštećenje bubrega vodi u akutno srčano popuštanje), Tip IV: Hronični renokardijalni sindrom (hronična bolest bubrega vodi u srčanu insuficijenciju), Tip V: Sekundarni uzrok dovodi do srčane insuficijencije i oštećenja bubrežne funkcije (septički šok, vaskulitis), (147).

Kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom bolešću (ESRD) blizu 44% smrtnih slučajeva izazvano je nepovoljnim kardiovaskularnim događajima (148). U meta analizi

Tonellia i sar (149) iz 2006. godine pokazano je da bolesnici u ESRD umiru češće zbog zadesnih kardiovaskularnih događaja, nego zbog bubrežne bolesti. Polovina bolesnika koji započinju lečenje redovnim hemodijalizama dobije infarkt miokarda u naredne dve godine dijalize, sa čestim smrtnim ishodom (150). Povećanje mase leve komore i hipertrofija leve komore povećavaju potrebe miokarda za kiseonikom. Ove promene na srcu su česte u odmaklim stadijumima hronične bolesti bubrega, koja je udružena sa anemijom koja se progresivno produbljuje i nepovoljno deluje na srčanu funkciju (151).

Smrtnost bolesnika na hroničnom programu lečenja hemodijalizama izrazito je visoka i iznosila je do 23%, prema podacima Američkog renalnog registra iz 1999. godine (152). Kardiovaskularne bolesti su vodeći komorbiditet na hroničnoj hemodijalizi i predstavljaju jedan od vodećih uzroka smrtnog ishoda (153). Prema podacima Američkog registra iz 2008. godine, procenjena smrtnost kod kardiovaskularnih bolesnika (CVD) na hemodijalizi i peritonealnoj dijalizi bila je veoma visoka i iznosila je blizu 50% (154).

Smrtnost zbog CVD je posebno visoka kod dijaliznih bolesnika koji su preležali akutni infarkt miokarda (AIM), ali je povećana i kod drugih oblika aterosklerotičnih vaskularnih bolesti: hronična bolest koronarnih krvnih sudova, moždani udar, tranzitorni ishemični moždani udar, bolest perifernih arterijskih krvnih sudova. Hipertrofija leve komore srca (HLK) i posebno dilatativna kardiomiopatija i kongestivna srčana slabost povezane su sa povećanim mortalitetom na hemodijalizi (155). Pored tradicionalnih faktora rizika, koji su prisutni već u početnim stadijumima CKD, kod bolesnika na hemodijalizi nepovoljni su i (interdijalizno) opterećenje viškom tečnosti (hipervolemija), anemija, poremećaj elektrolita i oksidativni stres (156). Razvoj kardiovaskularnih bolesti značajno je brži i godišnja smrtnost bolesnika na hroničnoj hemodijalizi značajno je veća u odnosu na zdravu populaciju (157).

Visok procenat kardiovaskularnog komorbiditeta prisutan je kod bolesnika sa CKD još na samom početku bubrežne slabosti, u njenim prvim stadijumima, ukazuje da su CVD često prisutne u vreme započinjanja nekog od modaliteta zamene bubrežne funkcije (158,159). Petogodišnje preživljavanje muškaraca starijih od 64 godine u vreme započinjanja hemodijalize je manje, u odnosu na bolesnike sa karcinomom prostate ili debelog creva. Takođe, znatno je lošije petogodišnje preživljavanje žena starijih od 64

godine u momentu otpočinjanja lečenja hroničnom hemodijalizom, u odnosu na žene koje boluju od karcinoma dojke ili debelog creva. Približno polovina smrtnih ishoda na hroničnoj hemodijalizi bila je zbog kardiovaskularne bolesti, prema Nacionalnom registru SAD iz 1998. godine (160).

Kod bolesnika koji se leče hemodijalizom prisutni su brojni faktori rizika (povišen arterijski krvni pritisak, poremećaj metabolizma lipida, oksidativni stres, povećana koncentracija asimetričnog dimetil-arginina, inflamacija, hiperhomocisteinemija, anemija, sekundarni hiperparatiroidizam, povećan protok krvi kroz vaskularni pristup za hemodijalizu), koji su odgovorni za povećanu incidencu razvoja ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti (161-164).

1.6. a. Faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti u terminalnoj bolesti bubrega

Faktori rizika za KVS bolesti kod bolesnika na dijalizi mogu se podeliti u tri velike grupe:

1. Tradicionalni faktori rizika (muški pol, hipertenzija, dijabetes, dislipidemija, pušenje, prekomerna težina, hiperhomocisteinemija, hipertenzija, hiperlipidemija, dijabetes melitus, pušenje, menopauza, fizička neaktivnost, pozitivna porodična anamneza),
2. Faktori rizika zbog uremije (opterećenje volumenom, AV fistula, anemija, poremećaj prometa kalcijuma i fosfora, elektrolitni dizbalans kalijuma, ređe natrijuma i jona vodonika, hronična inflamacija, oksidativni stres, povećan katabolizam, poremećaj lipoproteinemije, protrombotički faktori, hiperhomocisteinemija),
3. Faktori povezani sa dijalizom (inter- i intradijalizne promene kardijalnog statusa, oscilacije krvnog pritiska, oscilacije u nivoima elektrolita u serumu (kalijum, kalcijum) i disbalans elektrolita, metabolička acidoza, bioinkompatibilnost dijalizne membrane, čistoća dijalizne tečnosti, opterećenje volumenom, anemija, oksidativni stres, hipoalbuminemija, neadekvatna doza hemodijalize ili sub-dijaliziranost (165,166).

1.6. b. Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi

Kardiovaskularne bolesti (*engl. cardiovascular disease, CVD*) sa najvećom prevalencom kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi su (133, 153, 167-169):

1. hipertrofije leve komore (HLK),
2. ishemična bolest srca (IBS),
3. kongestivna srčana slabost (*engl. congestive heart failure, CHF, KSS*).

Blizu trećine bolesnika na hemodijalizi koji imaju simptome i znake ishemične bolesti srca nemaju ranije verifikovanu dijagnozu koronarne bolesti (stabilna, odnosno nestabilna angina pectoris i infarkt miokarda), (170). Aterosklerotične promene na koronarnim krvnim sudovima koje su dovele do ishemične bolesti srca i kardiomiopatije, a koje su prisutne u vreme otpočinjanja programa hronične hemodijalize skraćuju preživljavanje bolesnika. Ishemična bolest srca nije nezavisni prediktivni faktor preživljavanja na hemodijalizi, već u sadejstvu sa srčnom insuficijencijom povećava rizik mortaliteta i disfunkciju leve komore, te je glavni uzrok smrtnog ishoda (171).

Poslednje studije na bolesnicima na hemodijalizi označile su kardiomiopatiju kao glavni uzrok smrtnog ishoda (43-52%), (172). Kardiovaskularni status je pod snažnim uticajem stepena anemije i medijatora iz sistema renin-angiotenzin, koji se moduliraju pod uticajem polimorfizma konvertaze angiotenzina I (ACE) genotipa. Uočena je međusobna povezanost (oporavka) anemije, kardiovaskularnog statusa, hronične niskostepene inflamacije i progresivne ateroskleroze.

Hipertrofija leve komore (HLK) je veoma česta u CKD (do 40% bolesnika), a prema pojedinim istraživanjima i do 75% bolesnika na dijalizi razvije HLK (158,173).

Poremećaj morfologije i funkcije leve komore bolesnika na hroničnoj hemodijalizi može da se manifestuje kao: a. koncentrična hipertrofija LK; b. ekscentrična hipertrofija LK; c. dilatacija LK; d. poremećaj sistolne funkcije LK tj. poremećaj dijastolne funkcije LK. Hipertrofija leve komore se procenjuje na osnovu indeksa mase leve komore (LVMi), relativne debljine zida leve komore (RWT) i volumena leve komore (iEVD), (174,175). Referentne vrednosti za LVMi iznose $< 131 \text{ g/m}^2$ za muškarce i $< 100 \text{ g/m}^2$ za žene, za RWT iznose $< 0,45$, a referentne vrednosti za iEVD $\leq 90 \text{ mL/m}^2$ (174-176).

Hipertrofija leve komore definiše se kada je LVMi $>131 \text{ g/m}^2$ za muškarce i $>100 \text{ g/m}^2$ za žene, a razlikovanje kategorije koncentrične od ekscentrične HLK je na osnovu vrednosti RWT, tako da je u koncentričnoj HLK vrednost $\text{RWT} > 0,45$, a u ekscentričnoj HLK vrednost $\text{RWT} \leq 0,45$ (177).

Pokazana je inverzna povezanost nivoa hemoglobina u krvi bolesnika na hroničnoj hemodijalizi i veličine srca. Kod bolesnika kod kojih je u dužem periodu vrednost hemoglobina bila $<88 \text{ g/L}$ krvi uočena je progresija u dilatativnu HLK, pojava srčane slabosti, kao i čest smrtni ishod (10), broj hospitalizacija bio je veći (178).

Značajan procenat bolesnika koji započinju dijalizu ima ispoljene znake nekog od kardiovaskularnih oboljenja. U slučajevima odsustva kliničkih i ehokardografskih znakova kardiovaskularnih bolesti kod bolesnika koji započinju lečenje hemodijalizom postoji visok rizik za razvoj kardiovaskularnog oboljenja *de novo* (165).

Štetni uticaji navedenih tradicionalnih faktora rizika, kao i faktora koji se razvijaju u okviru progresije CKD, dodatno se povećavaju započinjanjem lečenja hroničnom hemodijalizom. Gubitak rezidualne bubrežne funkcije, uremični milje, nagomilavanje potencijalnih kardiotoksičnih molekula, održavanje hronične inflamacije i oksidativni stres, uz nepovoljne faktore povezane sa dijaliznim tretmanom dovode do značajno bržeg razvoja kardiovaskularnih oboljenja na hemodijalizi.

Pored tradicionalnih faktora rizika, koji su prisutni već u početnim stadijumima bubrežne insuficijencije, kao teško korektibilni faktor rizika za CVD u terminalnoj CKD prisutni su opterećenje volumenom, anemija, poremećaj elektrolita i oksidativni stres (165,179). Razumevanje nastanka kardiovaskularnog komorbiditeta kod bolesnika na hemodijalizi je od neobične važnosti u cilju prevencije, odnosno, odlaganje kardiovaskularnih komplikacija.

1.6. c. Sindrom kardiorenalne anemije

Sindrom kardiorenalne anemije (*engl. cardiorenal anaemia syndrome, CRAS*) su prvi opisali Silverberg i sar 2002. godine (180), kao začarani krug bubrežne slabosti sve do terminalne CKD i brze progresije kongestivne srčane insuficijencije u prisustvu anemije.

U ovom začaranom krugu progresije CKD i srčane insuficijencije, anemija ima ulogu i uzroka i posledice. Anemija pogoršava bubrežni slabost i srčanu insuficijenciju, a sama je izazvana disfunkcijom bubrega, koju produbljuje srčana slabost (181).

Pored multifaktorijalnosti nastanka anemije u CKD i u hroničnoj srčanoj insuficijenciji, nedostatak gvožđa u oba patološka stanja se smatra jednim od glavnih razloga anemije, pored (relativnog) nedostatka Epo (182,183). Nivoi endogenog eritropoetina koji se sekretuje u tubulointercijumu bubrega su sniženi u hroničnoj bolesti bubrega i razlog su renalne anemije, dok su nivoi eritropoetina povišeni u kongestivnoj srčanoj slabosti. Studije su pokazale protektivno dejstvo eritropoetina na srce, apoptoza mišićnih ćelija srca je ređa i povećava se sinteza vazodilatatornog azotnog oksida (184,185).

1.7. Angiotenzin I konvertujući enzim

Konvertaza angiotenzina I (*engl. angiotensin I converting enzyme, ACE*) je dipeptidil karboksipeptidaza EC 3.4.15.1 koja je cink- metaloproteinaza i koja hidrolizuje angiotenzin I u angiotenzin II, snažan vazokonstriktorni hormon, faktor rasta i stimulator lučenja aldosterona. Enzim ACE može znatno da inaktivira delovanje vazodilatatornog peptida bradikininina. Vazokonstriktorni angiotenzin II i vazodilatatorni molekuli bradikinin i prostaglandini moduliraju tonus krvnih sudova, proliferaciju glatkih mišićnih ćelija i produkciju kolagenih vlakana ekstraćelijskog matriksa.

Enzimsko aktivnost ACE zavisi od prisutnosti hloridnih jona, to ga čini jedinstvenim u familiji metaloproteinaza. ACE je ključni enzim sistema renin-angiotenzin i kalikreinskog sistema (186) i ima veoma važnu ulogu u regulaciji krvnog pritiska, održavanju homeostaze vode i elektrolita bubrezima, kao i u proliferaciji matičnih ćelija. ACE može da deluje i na druge supstrate, pokazujući endopeptidaznu ili aminopeptidaznu aktivnost.

1.7. a. Gen za angiotenzin I konvertujući enzim

ACE gen se nalazi u okviru regije hromozoma 17q23, dužine je 21 kb i sadrži 26 egzona koji variraju u veličini od 88 parova baza (pb) do 481 pb DNK. Kodirajuća

DNK sastoji se od 4020 pb. Zreli transkript ACE sadrži 25 egzona, pošto se egzon 13 procesovanjem (*engl. splicing*) izdvaja iz primarnog transkripta. Struktura gena pokazuje visok stepen podudarnosti između dva velika domena, ukazujući na mehanizam nastanka udvostručavanjem ancestralnog gena. Gen ACE nalazi se u jednoj kopiji u humanom haploidnom genomu (187).

Prisutna su dva ACE promotorna mesta: somatski promotor koji se nalazi na 5' kraju prvog egzona i germinalni intrageni promotor smešten na 5' kraju specifične testikularne informacione RNA za ACE (188).

Dva alternativna promotora za gen ACE pokazuju visoku ćelijsku specifičnost. Somatski promotor aktivan je u endotelnim, epitelnim i nervnim ćelijama, dok je germinalni promotor aktivan samo u određenom stadijumu razvoja muških polnih ćelija (189).

1.7. b. Insercijsko-delecijski polimorfizam ACE gena

Istraživanja koja govore o povezanosti određenih DNK polimorfizama sa češćom pojavom neke bolesti predstavljaju važan izvor informacija o kandidatima za mapiranje bolesti. Polimorfizam nekog gena označava postojanje dve ili više varijanti gena i da bi se genski lokus smatrao polimorfnim neophodna je učestalost pojavljivanja najređeg alela $\geq 1\%$. Analiza DNK polimorfizama predstavlja epidemiološku osnovu u istraživanjima genetskih uzroka bolesti, genetskih predispozicija za određene bolesti ili genetskih uticaja na efekte terapije, kao i genetske faktore starenja. Najveći broj polimorfizama humanog genoma javljaju se kao polimorfizmi u jednom nukleotidu (*engl. single nucleotide polymorphisms*, SNPs). Drugi polimorfizmi kao što su insercijsko-delecijski polimorfizmi sadrže promene većih segmenata DNK i ređe se javljaju. Najveću zainteresovanost za istraživanja izazvao je polimorfizam ACE gena. Rezultati studije sprovedene na velikom uzorku zdravih srodnika pokazali su veliku sličnost u koncentraciji ACE u plazmi kod članova porodice, što je ukazivalo na postojanje glavnog gena (190). Kasnih osamadesetih godina prošlog veka naučnici započinju genetska istraživanja u cilju otkrivanja uzroka individualnih razlika u odgovoru na antihipertenzivnu terapiju ACE inhibitorom. Rigat i sar (43) 1990. godine prvi su identifikovali polimorfnu DNA sekvencu, koji se zasniva na insercijsko (prisustvu)/ delecijskom (odsustvu) - (I/D) polimorfizmu sekvence od 287 parova baza

u intronu 16 gena ACE. Pokazali su 47% fenotipskih razlika u serumskim vrednostima aktivnosti ACE povezanih s I/D polimorfizmom gena, a to dovodi do hipoteze o uticaju I/D polimorfizma na efekat ACE inhibitora. Smatra se da mutaciju predstavlja delecija, a ne insercija sekvenci, to potvrđuje otkriće homologne DNK sekvence između 13 parova baza pronađene u insercijskoj sekvenci ACE gena, kao i prisustvo negativnog regulatornog elementa u genu za renin. Insercija u okviru regulatorne regije gena ACE suprimira, a delecija u okviru iste regije aktivira gen ACE. Prisustvo (I) ili odsustvo (D) 287 parova baza *alu* ponavljajućeg sleda u intronu 16 gena ACE određuje postojanje tri različita genotipa: nosioce DD, II i ID alela, a svaki od njih može da određuje aktivnost tkivne ili plazmine konvertaze angiotenzina I (43,190-192).

DD genotip ukazuje da u oba alela ACE postoji delecija 287 parova baza, osoba je homozigot. Obrnuto, prisutnost insercijskog segmenta na oba alela ukazuje da je osoba homozigot za II genotip. ID genotip ukazuje da je osoba heterozigot, a delecija 287 parova baza prisutna je samo na jednom alelu. Srednja vrednost aktivnosti ACE u plazmi kod osoba sa DD genotipom je oko dva puta viša u odnosu na osobe sa II genotipom, dok ID nosioci imaju srednju vrednost između DD i II homozigota. Nosioci DD genotipa imaju najviše koncentracije ACE, a nosioci genotipa II najniže koncentracije ACE u plazmi (193).

Srednja vrednost aktivnosti plazminog ACE kod osoba sa DD genotipom je oko dva puta viša nego kod osoba sa II genotipom, dok ID nosioci imaju srednju vrednost, između nosica DD i II homozigota. Oko 50% ukupne individualne razlike aktivnosti cirkulišućeg ACE u opštoj populaciji objašnjava se dejstvom ACE I/D polimorfizma (194).

Insercijsko-delecijski polimorfizam gena ACE, koji predstavlja nepromenljivu gensku osobenost svakog pojedinca, mogao bi direktno, ili što je verovatnije posredno putem još uvek nepoznatog molekularnog mehanizma da modifikuje stabilnost ili efikasnost izrezivanja prekursora informacione ribonukleinske kiseline (RNK) za ACE. Verovatno se genska kontrola nivoa serumskog ACE odvija na nivou transkripcije, iako polimorfizam ne deluje direktnom regulacijom transkripcije, već ukazuje na neravnotežu između regulatornih mehanizmima ekspresije ACE gena. Do sada nije

dokazano diferencijalno izrezivanje koje bi moglo da ugradi ovaj sled u primarni transkript i u tom slučaju da modifikuje aktivnost enzima ACE.

Postavlja se pitanje da li *Alu* insercijski sled na neki način kontroliše izrezivanje primarnog transkripta, koji vodi u nastajanje zrele glasničke RNK. Nadalje, polimorfizam ACE može da bude “povezni” beleg (*engl. linkage*), koji ima kritičan efekat na konfirmaciju aktivnog mesta enzima, prepoznavanje supstrata, katalizu, ali i na još neprepoznate DNK elemente koji kontrolišu proces transkripcije. Druga mogućnost je postojanje “pojačivača” (*engl. enhancer*) u insercijskom sledu, koji reguliše transkripcijsku aktivnost za ACE gen.

Kako se insercijski sled nalazi u intronu 16 koji zauzima ~1.9 kb DNK, takav pojačivač je usmeren na prvi proksimalni promotor smešten 2.2-4.1 uzvodno ili drugi smešten od 9.9-11.8 kb na 5' kraju. Ovu hipotezu podržava otkriće manjeg oblika ACE prisutnog samo u testisima koji nastaje uključivanjem promotora u intronu 1212.

Dosadašnja istraživanja pokazala su značajno veću zastupljenost delecijских homozigota kod bolesnika koji su imali infarkt miokarda (194), sa hipertrofijom leve komore (195), istanjenim zidom karotidnih arterija (196) i esencijalnom hipertenzijom (197), kod dijabetesne nefropatije i dijabetes melitusa (198) i kod cerebrovaskularnih bolesnika (199).

1.7. c. ACE polimorfizam, oboljenje koronarnih arterija i infarkt miokarda

Literaturna saopštenja su oprečna kada se radi o značaju i uticaju I/D polimorfizma ACE genotipa kod kardiovaskularnih bolesti. Ranije studije ukazuju na povezanost D alela ACE genotipa i bolesti koronarnih arterija, uključujući ranu pojavu oboljenja koronarnih arterija i češću pojavu infarkta miokarda. Cambien i sar (194) su u multicentričnoj kontrolisanoj studiji na blizu 1300 osoba pokazali da je DD genotip udružen sa povišenim rizikom za razvoj infarkta miokarda (IM). Cambien i sar (200) kasnije saopštavaju da je aktivnost enzima ACE u plazmi povećana kod nosioca DD genotipa mlađih od 65 godina, koji su preležali infarkt miokarda. Kod osoba sa nižim opštim rizikom za razvoj koronarne bolesti bila je i nešto niža incidenca IM i kod

nosioca DD genotipa, te je shvaćeno da je značaj I/D polimorfizma za CVD u drugom planu.

Uprkos navedenim saopštenjima, ponovljena istraživanja označavaju DD genotip kao nezavistan faktor rizika za nastanak koronarne bolesti i infarkta miokarda i potvrđena je udruženost DD genotipa sa težinom kardijalnih bolesti. Kod nosioca DD genotipa statistički je značajno češća pojava trosudovne bolesti koronarnih arterija (201). Takođe, prevladalo je mišljenje da je ACE I/D polimorfizam faktor rizika za fatalni infarkt miokarda i iznenadnu srčanu smrt, a kao moguće objašnjenje navodi se uloga ACE u regulatornim mehanizmima sistema RAS i adrenergičkog sistema za kontrolu ekscitabilnosti vulnerabilnog miokarda, u pojavi sekundarnih aritmija i u vazokonstrikciji (202).

1.7. d. Polimorfizam ACE i hipertrofija leve komore

Masa leve komore predstavlja značajan nezavistan faktor predikcije kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta (203-205). Hipertrofija leve komore (HLK) primarno je prouzrokovana dugotrajnom hipertenzijom ali i ne hemodinamski faktori, kao što je genetski faktor, mogu da utiču na razvoj HLK. Udruženost ACE polimorfizma I/D sa povišenim rizikom za infarkt miokarda i sa nekoliko pridruženih faktora rizika za ishemični događaj u koronarnim arterijama otvara pitanje povezanosti polimorfizma ACE sa razvojem hipertrofije LK. U velikoj epidemiološkoj studiji Schunkert i sar (195), koji su analizirali povezanost ACE genotipa sa hipertrofijom LK kod belaca, uočeno je da DD genotip predstavlja nezavistan faktor rizika za razvoj HLK kod normotenzivnih muškaraca, ali ne i kod žena. Sličan zaključak je u studiji japanskih autora (206).

Prasad i saradnici (207) saopštili su da se efekat hipertenzije na masu leve komore ispoljava samo u prisustvu D alela i oni ističu da bolesnici sa DD genotipom imaju povišene vrednosti kardijalnog enzima ACE i veću koncentraciju angiotenzina II u miokardu, te da je kod ovih bolesnika efekat povećane lokalne aktivnosti RAS moguće značajniji, u odnosu na cirkulišuće molekule RAS sistema.

Na ovaj način prepoznat je višestruko štetan efekat dugotrajno povišenog angiotenzina II, pokretanjem hipertrofije miokarda u neinfarktnoj regiji srca, direktnim toksičnim dejstvom na miocite, posledičnom dilatacijom komora i remodelovanjem srca, stimulacijom proliferacije fibroblasta, izazivanjem hiperplazije glatkih mišićnih ćelija, endotelijalne disfunkcije, povećanim “*afterload*” opterećenjem leve komore, poremećenom dijasolnom relaksacijom u sadejstvu sa pojačanom vazokonstrikcijom koronarnih arterija i aktivacijom simpatičkog nervnog sistema (208-210).

U studijama je potvrđeno da primena ACE inhibitora popravlja sistolnu funkciju leve komore kod bolesnika u posleinfarktnom periodu (209). Regresija HLK značajno je veća sa terapijom ACE inhibitorima u poređenju sa stabilizacijom hipertenzije drugim antihipertenzivnim lekovima (204).

Bolesnici sa DD genotipom imaju 5% nižu ejekcionu frakciju (EF) posle infarkta miokarda, iako razlike u EF nisu uočene kod bolesnika koji nisu preležali infarkt miokarda, to dokazuje da je uticaj polimorfizma ACE na funkciju leve komore u sadejstvu sa postojanjem bolesti koronarnih arterija, odnosno sa neželjenim koronarnim događajima (209). Utvrđena je udruženost I/D polimorfizma ACE gena i mase srca i DD genotip je nezavistan faktor rizika za veću masu srca.

1.7. e. Uticaj angiotenzina II i insercijsko/delecijskog polimorfizma ACE genotipa na eritropoezu

Uloga sistema renin-angiotenzin (RAS) u procesu eritropoeze odavno je bila predmet naučnog istraživanja i postepeno se otkrivala tokom poslednjih decenija (41,211,212).

Prvi podaci o uticaju RAS u procesu eritropoeze se pominju 1980. godine uočavanjem udruženosti anemije i terapije inhibitorima angiotenzin konvertujućeg enzima (ACEi) kod hipertenzivnih bolesnika. Pojava većeg stepena anemije primećena je kod hipertenzivnih bolesnika sa CKD i u terminalnoj CKD, kao i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom na terapiji ACEi u cilju regulisanju hipertenzije (213-215). U ranim *in vitro* studijama pokazano je da angiotenzin II može da poveća korišćenje gvožđa u eritrocitima ubrzanom eritropoezom (216). Angiotenzin II ima ulogu u

regulaciji rasta i razvoja hematopoezne *stem ćelije* i povećava indeks proliferacija (mitoze) *stem ćelije* i diferencijacije u eritroidne progenitore (BFU-E). Angiotenzin II se smatra faktorom rasta eritroidnih progenitora, koji u sadejstvu sa endogenim eritropoetinom dovodi do povećanja mase eritrocita (42,212,217,218).

Receptor za angiotenzin II tip 1 (AT1R) se eksprimira na površini eritroidnih progenitora (42) i stimulatorna aktivnost angiotenzina II na eritropoezu povezana je sa nivoom ekspresije AT1 receptora i može da se blokira (antihipertenzivnom) terapijom blokatorima AT1R (219).

Angiotenzin II predstavlja sekretagog endogenog eritropoetina. Pokazano je na eksperimentalnom modelu da angiotenzin II povećava produkciju eritropoetina u uslovima hipoksije u intersticijumu bubrega, prilikom konstrikcije renalne arterije (212,220). Kasnije su ove navode potvrdila i ispitivanja na zdravim pojedincima. Potvrđen je negativan efekat blokatora AT1R na eritropoeznu aktivnost angiotenzina II (221,222). Terapija ACE inhibitorima (ACEi) snižava nivo angiotenzina II u serumu i to dovodi do reverzibilnog smanjenja koncentracije eritropoetina, efekat se gubi uklaňanjem ACEi iz terapije (223).

U kliničkoj praksi je poznato da bolesnici sa renovaskularnom hipertenzijom i sa transplantiranim bubregom sa stenozom renalne arterije imaju više vrednosti hematokrita od bolesnika koji imaju normalni protok kroz renalnu arteriju, tzv. sindrom posttransplantacione eritrocitoze (224). U osnovi ovog poremećaja je hipoperfuzija intersticijuma bubrega, koja aktivira sistem renin-angiotenzin sa posledičnom stimulacijom eritropoeze pomoću angiotenzina II. Angiotenzin II stimulaše sekreciju endogenog eritropoetina i direktno stimuliše proces eritropoeze u kostnoj srži (212) preko povećane ekspresije AT1R na površini eritroidnih progenitora u kostnoj srži. Inhibicijom angiotenzina II po uvođenju terapije ACE inhibitorom (ACEi) indukuje se apoptoza eritroidnih prekurzora u sindromu posttransplantacione eritrocitoze i to je povoljan terapijski efekat ACEi (225,226). Mehanizam dejstva ACEi i blokatora AT1R u posttransplantacionoj stenozu renalne arterije objašnjava efekte blokade sistema renin angiotenzin uvođenjem u terapiju ACEi ili AT1R blokatora na snižavanja vrednosti hematokrita kod bolesnika sa CKD sopstvenih bubrega (227-229). Angionezin II i eritropoetin indukuju slične intracelularne signale (230,231). Mogući mehanizam dejstva

je da se inhibicijom enzima ACE izaziva redukcija određenih stimulišućih faktora eritropoeze u serumu, kao što su faktor rasta sličan insulinu 1 i interleukin 12 (232,233).

Terapija ACEi usporava proces eritropoeze u anemiji različitog uzroka (234-238) i povećava potrebe za rHu Epo kod bolesnika na hroničnoj dijalizi (239,240) i obrnuto, ukidanje terapije ACEi dovodi do smanjene potrebne doze rHu Epo u suzbijanju anemije (237).

I/D polimorfizam ACE genotipa utiče na koncentraciju enzima ACE u serumu i objašnjava širok interpersonalni varijabilitet u koncentraciji enzima ACE i angiotenzina II. Nosioci D alela imaju značajno veće koncentracije ACE u odnosu na nosioce I alela (43). U nekim studijama opisana je visoka udruženost I/D polimorfizma u genotipu ACE sa rezistencijom na eritropoetin (241). Objavljeni su i oprečni rezultati, koji nisu pokazali povezanost I/D genotipa i nivoa aktivnosti u sistemu RAS kod bolesnika na hemodijalizi (242).

1.8. Uticaj modaliteta nadoknade gvožđa u terapiji eritropoetinom i I/D polimorfizma ACE genotipa na suzbijanje anemije kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi

U literaturi nema podataka o međudejstvu modaliteta supstitucije gvožđa (IV prema peroralnom), ACE genotipa i odgovora na terapiju eritropoetinom kod bolesnika na hemodijalizi, što je od kliničkog interesa za modulaciju protokola terapije anemije. Nadoknada IV Fe kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi vrši se do korekcije vrednosti feritina na ≥ 200 ng/mL i postizanja saturacije transferina (TSATs) $>20\%$, odnosno količine hemoglobina u retikulocitima (CHr) >29 pg/ćeliji (53). Preporuke svetskih vodiča za lečenje anemije bolesnika na hemodijalizi daju prednost supstituciji IV gvožđa prema peroralnom gvožđu, ali su oba modaliteta terapije Fe dozvoljena (53). Nije dovoljno ispitano u kojoj meri treba da se prilagodi terapija rHu Epo uvođenjem peroralne supstitucije gvožđa, obzirom na moguću različitu dinamiku odgovora na rHu Epo. Predmet našeg istraživanja je ispitivanje profila grupe parametara koji odslikavaju status prometa gvožđa i oporavak anemije i kardijalnog komorbiditeta primenom rHu Epo na hemodijalizi u odnosu na različitu supstituciju Fe i I/D polimorfizam ACE genotipa.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Da se ispita uticaj modaliteta supstitucije gvožđa (per os prema IV) i ACE polimorfizama I/D na anemiju i kardijalni komorbiditet kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, na osnovu:

1. Razlika usled načina davanja gvožđa (per os prema IV) u postizanju referentne feremije, u nivoima raspoloživog i rezervnog gvožđa i u postizanju referentne hemoglobinemije tokom 9 meseci terapije rHuEpo beta kod bolesnika na hemodijalizi.

2. Potrebne doze rHuEpo beta tokom 9 meseci u suzbijanju anemije kod bolesnika na terapiji Fe (per os prema IV) na hemodijalizi sa genotipom ACE DD prema genotipu ACE II/DI

3. Uticaja nivoa raspoloživog i rezervnog Fe na kardijalni komorbiditet kod bolesnika na hemodijalizi.

3. MATERIJAL I METODE

Bolesnici. Prospektivno i randomizirano devetomesečno istraživanje o efikasnosti supstitucije Fe (peroralno ili IV) u lečenje anemije eritropoetinom beta i u odnosu na polimorfizam ACE genotipa I/D obuhvatilo je 101 adultnog bolesnika tokom 2014. godine, na programu lečenja redovnim hemodijalizama, od kojih je 71 bolesnik u dijaliznom centru Opšte bolnice Novi Pazar, 19 bolesnika u dijaliznom centru Zdravstvenog centra “ Studenica “ u Kraljevu i 11 bolesnika u dijaliznom centru Doma zdravlja u Tutinu.

Od 101 bolesnika koji su započeli ispitivanje, 9 bolesnika nije završilo istraživanje (4 žene i 5 muškaraca). Dva bolesnika su transplantirana u trećem mesecu studije, 7 bolesnika je umrlo (3 žene i 4 muškarca): 3 bolesnika u 4om i 2 bolesnika u 5om mesecu, po jedan bolesnik u drugom i u 8om mesecu. Ukupno 92 bolesnika je završilo devetomesečni protokol istraživanja.

Svi bolesnici su bili na programu bikarbonatne hemodijalize tri puta nedeljno, prosečno 12h nedeljno na aparatima za hemodijalizu sa kontrolisanom ultrafiltracijom (Aparati Fresenius 5008 i 5008S, Fresenius 4008S i 4008H, Gambro AK 200 Ultra S, INNOVA). Korišćeni su polisulfonski niskopropusni i visokopropusni dijalizatori površine 1.3 do 2.4 m², prema dijaliznoj preskripciji optimizovanja za svakog bolesnika, postignuta adekvatnost dijalize Kt/V >1.2. Korišćen je standardni rastvor za hemodijalizu: Na⁺138 mmol/L, Ca⁺⁺1,75/1,5/1,25 mmol/L, Cl⁻109,5 mmol/L, K⁺2 mmol/L, Mg⁺⁺1 mmol/L, CH₃COO⁻ 6 mmol/L, HCO₃⁻32 mmol/L i glukoze 5,5 mmol/L.

Glavni kriterijumi za uključanje bolesnika u istraživanje su bili nivo feritina u serumu <800 ng/mL i nivo saturacije transferina gvoždem (TSAT=sFe/TIBCx100) >15% aproksimativno. Posle mesec dana pripreme bolesnika za dostizanje ovih kriterijuma, koja je uključivala primenu eritropoetina beta i Fe (ako je potrebno IV Fe) ukoliko je TSAT% bio veći od 15% aproksimativno bili su svrstani metodom proste randomizacije u dve terapijske grupe - grupa Per os FE (na peroralnom preparatu gvožđe glukonata) i grupa IV FE (bolesnici koji su dobijali parenteralno preparat gvožđe glukonata). Parametar za procenu pravilne randomizacije bio je dostizanje

količine hemoglobina u retikulocitu (CHR) >26 pg/ćeliji, što je zadovoljilo 100 bolesnika.

Ostali kriterijumi za uključivanje bolesnika u istraživanje su bili: starost bolesnika ≥ 18 godina; adekvatnost hemodijalize $Kt/V(\text{urea}) > 1.2$; odsustvo virusnog hepatitisa B i C ili HIV infekcija, odsustvo dijagnostikovanog maligniteta, kao i aktivne infekcije i pozitivnih markera zapaljenja, zatim graviditeta i dojenja.

Kriterijumi za isključivanje bolesnika iz istraživanja su bili: anemija koji nije povezana sa HBI; raniji podaci o postojanju hepatitisa B ili C; pozitivan test na trudnoću; transfuzije krvi u poslednja tri meseca; održavanje vrednosti serumskog feritina ≥ 800 ng/mL duže od tri meseca; hemohromatoza kao i ozbiljni problemi u korišćenju gvožđa (alergije na preparat gvožđa, hronično povraćanje); dekompenzovana ciroza jetre ili aktivni hepatitis; ozbiljna akutna ili aktivna hronična infekcija druge prirode; hipovitaminoza B12 i folne kiseline; transplantacija bubrega u toku ispitivanja; novootkriveni malignitet; odsustvo sa tri uzastupna hemodijalizna tretmana; hospitalizacija izvan dijaliznog centra duža od 30 dana.

Kriterijumi za privremeno obustavljanje terapije gvoždem su: vrednost feritina 500-800 ng/mL; TSAT $\geq 50\%$; pojava znakova aktivne infekcije i inflamacije koja zahteva IV antibiotsku terapiju; masivne transfuzije.

Terapijske grupe i protokol terapije gvoždem

Prva grupa bolesnika (grupa "Peroralno FE") dobijala je peroralni preparat gvožđe glukonata (gvožđe (II) glukonat + mangan glukonat + bakar glukonat) u dozi 50-100 mg dnevno. Peroralni preparat gvožđe glukonata uziman je naštine ujutru, pre obrok, uz tabletu vitamina "C" 500 mg.

U drugoj grupi bolesnika (grupa "IV FE") supstitucija gvožđa vršena je parenteralno, primenom gvožđe glukonata u kompleksu natrijum-gvožđe (III) glukonat u infuziji 100 mg/5mL rastvorenog u 100 mL 0,9% NaCl, na kraju svake hemodijalize do postizanja zadovoljavajućeg nivoa hemoglobina (105-110 g/L) i indeksa saturacije transferina (TSAT $> 20\%$), zatim jednom u petnaest dana.

Protokol terapije epoetinom beta

Epoetin beta u početnoj dozi 200 IU/kg primenjen je subkutano 3 x nedeljno na kraju sesije hemodijalize, sve do porasta hemoglobina u krvi za +10 g/L. Terapija se nastavlja umanjenom dozom epoietina beta za 25%, do porasta hemoglobina na 110 g/L, zatim se proređuje na 7 ili 15 dana.

Adekvatnost dijalize određivana je indeksom $Kt/V \geq 1.2$, prema Daugirdasovoj formuli (243):

$$Kt/V = -\log(U_{\text{post}}/U_{\text{pre}} - 0.008t) + (4 - 3.5 U_{\text{post}}/U_{\text{pre}}) \times (W_{\text{pre}} - W_{\text{post}})/W_{\text{post}}$$

U_{post} – vrednosti ureje posle dijalize, U_{pre} – vrednosti ureje pre dijalize; W_{post} – telesna masa posle dijalize, – telesna masa pre dijalize, t – vreme dijaliziranja u satima i $W_{\text{pre}} - W_{\text{post}}$ volumen ultrafiltracije.

Svi bolesnici su tokom 9 meseci istraživanja bili na terapiji ACE inhibitorom u cilju kontrole krvnog pritiska do vrednosti 145/85 mmHg. Terapija ACEi je isključivana, odnosno, smanjivana u situaciji krvnog pritiska nižeg od 130/75 mmHg.

Biohemijsko ispitivanje

Uzorkovanje krvi - Kod svih bolesnika uzorci periferne krvi uzimani su zatvorenim vakum sistemom, ujutru naštinu, na dan hemodijalize i posle centrifugiranja na 3000 ob/min tokom 30 min i prosleđeni na ledu do biohemijske laboratorije. Za procenu adekvatnosti hemodijalize uziman je uzorak periferne krvi zatvorenim vakum sistemom na uključenju na hemodijalizni postupak i na isključenju bolesnika sa postupka hemodijalize.

Biohemijski parametri - Ispitivani su biohemijski parametri prometa gvožđa i parametri anemije, kao i ureja u krvi.

Biohemijski parametri prometa gvožđa i odgovora kostne srži na terapiju eritropoetinom procenjivani su sledećim hematološkim parametrima u serumu: serumsko gvožđe (sFe, $\mu\text{mol/L}$), ukupni kapacitet transferina za vezivanje gvožđa (TIBC, $\mu\text{mol/L}$), saturacija transferina gvoždem (TSAT, %), feritin (ng/mL), koncentracija transferina (g/L), procenat hipohromnih eritrocita (HRC, %), količina

hemoglobina u retikulocitima (CHr, pg/ćelija) na tri meseca, serum – solubilni transferinski receptor (sTfR mg/L) i indeks sTfR prema feritinu (sTfR/feritin x100) na početku i na kraju studije (prvi i deveti mesec).

Praćeni su sledeći biohemijski parametri anemije: hemoglobin u krvi (HGB, g/L), broj eritrocita (RBC, broj eritrocita x 10¹²/L) i eritrocitni i retikulocitni indeksi na tri meseca, hematokrit (HCT, L/L), srednji volumen eritrocita (MCV, fL), koncentracija hemoglobina u eritrocitima (MCHC, g/L), broj retikulocita (Rtc x 10⁹/L), procenat retikulocita (%Rtc), koncentracija hemoglobina u retikulocitima (CHCr, g/L) i srednji volumen retikulocita (MCVr, fL).

Biohemijski testovi - U uzorcima krvi sa kalijum EDTA kao antikoagulansom određena je kompletna krvna slika, koncentracija retikulocita i retikulocitni indeksi. Uzorci su analizirani na hematološkom analizatoru Advia 2120i (Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Germany). U uzorcima seruma određeni su koncentracija gvožđa (COBAS INTEGRA Gvožđe Generacije 2 IRON2), TIBC (preračunavanjem iz slobodnog kapaciteta za vezivanje gvožđa po formuli TIBC=serumsko gvožđe+UIBC, COBAS INTEGRA test Slobodni kapacitet vezivanja gvožđa (UIBC)), koncentracija feritina (Tina-quant Ferritin test generacija 4 FERR4), transferina (Cobas Integra COBAS Tina-quant Transferin Generacije 2, TRSF2) i solubilnog transferinskog receptora (Cobas Integra Tina-quant Rastvorljivi Transferinski Receptor sTfR) komercijalnim testovima proizvođača Roche na analizatoru Roche Cobas 6000 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Ureja pre i posle hemodijalizne procedure za potrebe određivanja adekvatnosti hemodijalize, određivana je komercijalnim testom (Flex reagent cartridge BUN), na aparatu Siemens Dimension clinical chemistry sistem.

Kardiovaskularno ispitivanje

Kardiovaskularni status bolesnika određivan je na osnovu ehokardiografskih morfoloških karakteristika leve komore na početku i posle 9 meseci terapije i procenom ejeckione frakcije leve komore (EF), kao i praćenjem krvnog pritiska (dijastolnog, sistolnog i srednjeg arterijskog pritiska) na tri meseca (1, 3, 6, i 9 mesec). Kvantitativna

ehokardiografija sprovedena je prema vodičima Američkog udruženja za ehokardiografiju (244). Svi ehokardiografski pregledi su urađeni dan posle postupka hemodijalize na ultrazvučnom aparatu marke „GE“ VIVID 4 sektor sondom od 3.0-8.0 MHz, od strane 2 ispitivača kardiologa (kontrola), za svakog bolesnika na početku i u devetom mesecu istraživanja.

Određivani su sledeći parametri: debljina interventrikularnog septuma u dijastoli (IVSd), debljina zadnjeg zida leve komore na kraju dijastole (PWTD), endodijastolni dijametar leve komore (LVEDD), na početku i posle 9 meseci praćenja bolesnika.

Ejekciona frakcija leve komore (EF) određivana je preračunavanjem Teicholzovom formulom (245):

$$EF = EDD3 \times 7 / (2.4 + EDD).$$

Masa leve komore (LV Mass) je izračunata metodom Devereuxa i Reicheka (Pen konvencija), (173, 244-246):

$$LV \text{ mass (Penn)} = 0,8 (1.04 \times ([LVEDD + PWTD + IVS]^3 - [LVEDD]^3)) - 13,6 \text{ g},$$

LVEDD - endodijastolni dijametar leve komore, PWTD - debljina zadnjeg zida leve komore, IVS - debljina interventrikularnog septum.

Relativna debljina zida leve komore (RWT, engl. right wall ticknes) predstavlja odnos debljine zadnjeg zida leve komore na kraju dijastole (endodijastolna debljina zadnjeg zida leve komore) prema endodijastolnom unutrašnjem prečniku leve komore. Normalno iznosi <0.45. Relativna debljina zida leve komore (RWT) je izračunata kao dvostruki količnik debljine slobodnog zida leve komore i njenog endodijastolnog dijametra (244):

$$RWT = 2 \times PWTD / LVEDD.$$

Indeks mase leve komore (LVMI – Severity; LVMASS index/ body serface area) je masa leve komore na površinu tela i odlikava težinu eventualnog poremećaja pomenutog odnosa kroz 4 kategorije: 0, 1, 2, 3 ili nornalan nalaz, blaga abnormalnost, umerena abnormalnost, teška abnormalnost.

Geometrija RWT (promena geometrije leve komore) procenjuje se na osnovu odnosa indeksa mase leve komore (LVMI) i relativne debljine zida leve komore (RWT).

Pogodan je parametar za razlikovanje koncentrične od ekscentrične hipertrofije leve komore. Geometrija RWT se svrstava u 4 kategorije: normalna geometrija ($RWT \leq 0,42\%$ i $LVMI \leq 95 \text{ g/m}^2$ žene, $LVMI \leq 115 \text{ g/m}^2$ muškarci), koncentrično remodelovanje ($RWT > 0,42\%$ i $LVMI \leq 95 \text{ g/m}^2$ žene $LVMI \leq 115 \text{ g/m}^2$ muškarci), koncentrična hipertrofija (opterećenje pritiskom), ($RWT > 0,42\%$ i $LVMI > 95 \text{ g/m}^2$ žene i $LVMI > 115 \text{ g/m}^2$ muškarci), ekscentrična hipertrofija (opterećenje volumenom), ($RWT \leq 0,42\%$ i $LVMI > 95 \text{ g/m}^2$ žene i $LVMI > 115 \text{ g/m}^2$ muškarci) (176, 244, 247).

Genetsko ispitivanje

Molekularno-genetičko ispitivanje podrazumeva izolaciju ukupne genomske DNK, analizu polimorfizama gena za ACE primenom reakcije lančane polimerizacije (PCR). U radu je upotrebljena DNK izolovana iz limfocita periferne krvi bolesnika. Za izolaciju je primenjena metoda isaljavanja ("salting out") po Milleru 1988 (248).

Određivanje polimorfizma ACE (II DI, DD,)

Uzorkovanje krvi - Za ispitivanje genotipa ACE I/D uzorak periferne venske krvi bolesnika uziman je pre postupka hemodijalize i čuvan u epruveti sa antikoagulansom (Na-citrat, EDTA) na temperturi $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ do genetskog analiziranja.

Shema 1. Sastav pufera za izolovanje DNK iz periferne krvi

Pufer za lizu*	Fiziološki pufer	Pufer A	TE pufer
0.32 M SAHAROZA	0,075 M NaCl	10 mM TRIS HCl #	10 mM TRIS HCl#
10 mM TRIS HCl #	0,025 M EDTA pH 8	400 ml NaCl	1mM EDTA
1% TRITON x 100		2 mM EDTA	
5 mM MgCl ₂			

*Autoklavirati i čuvati na $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, # pH 7.5

Izolovanje DNK iz periferne krvi - Uzorak od 5-10 mL venske krvi sa antikoagulansom (Na-citrat, EDTA) se pomeša sa istom količinom pufera za lizu i 15 do 20 minuta drži na $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Potom se centrifugira 15 min na 2000 obrtaja, supernatant se odbaci, a talog se resuspenduje u 5-10 ml fiziološkog pufera. Uzorak se potom centrifugira 15 min na 2000 obrtaja, a postupak ponavlja 2-3 puta dok talog ne pobeli. Nakon poslednjeg "ispiranja" supernatant se odbaci, a talogu doda 3 mL pufera A, 50 μl

10% proteinaze K i 200 µl 10% SDS (Na- dodecilsulfat). Uzorak se dobro resuspenduje i inkubira preko noći na 37 0C. Sledećeg dana se doda 1 mL 6M NaCl, dobro promućka i centrifugira 15 minuta na 3000 obrtaja. Supernatant se prenosi u čistu epruvetu i centrifugira 15 minuta na 4000 obrtaja. Supernatant se pažljivo preliva u čistu graduisanu epruvetu, a zatim se doda isti volumen izopropanola. Pažljivim mućkanjem izdvaja se beličasti končić DNK. Končić se pažljivo pokupi staklenim štapićem i potopi 30 sekundi u 70% etanolu. DNK se osuši na vazduhu, a zatim se rastvori u 300 µl redestilovane vode.

Koncentracija DNK u uzorku merena je spektrofotometrom na 260 nm, a čistoća DNK određivana ja na osnovu apsorbance uzorka na 260 i 280 nm.

PCR za određivanje plomorfizma ACE I/D. Za detekciju inserciono/delecionog (I/D) polimorfizma gena za angiotenzin konvertujući enzim (ACE) primenjena je reakciju lančane polimerizacije (PCR). Princip PCR reakcije je selektivno umnožavanje željenog regiona DNK pomoću termostabilne DNK polimeraze -Taq polimeraze. Neophodno je poznavati nukleotidni redosled ciljnog segmenta, radi sinteze specifičnih oligonukleotidnih graničnika-prajmera, komplementarnih terminalnim delovima analiziranog regiona, veličine 20-30 bp. Prajmeri će se specifično vezati za denaturisanu DNK i ograničiti ciljni region (ponašaju se kao RNK početnica). Za svaki set prajmera određuje se optimalna koncentracija Mg (kreće se od 1-10mM). Reakciona smeša sadrži H₂O, dezoksinukleotid trifosfate (dNTP), pufer 10X , jone Mg⁺⁺, prajmer 1 i 2, DNK i Taq polimerazu.

Za detekciju inserciono/delecionog (I/D) polimorfizma gena za angiotenzin konvertujući enzim (ACE) u ovom istraživanju primenjena je PCR metoda. U PCR reakciji korišćeni su prajmeri sekvence:

5'sense-prajmer CTG GAC ACC ACT CCC ATC CTT TCT- 3' i

5'antisense-prajmer-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T- 3'.

Za svaki uzorak 25 µl reakcione smeše sadrži:

-2,5 µl 10 x PCR pufera

-1,5 µl 25 mM MgCl₂

-0,5 µl 10 mM dNTP

-0,5 µl prim 1 (300 ng / µl)

- 0,5 μ l prim 2 (300 ng / μ l)
- 2 μ l DNK (100 ng / μ l)
- 0, 2 μ l Taq polimeraze (5U/ μ l)
- H₂O (REDE ampulirane) ad 25 μ l

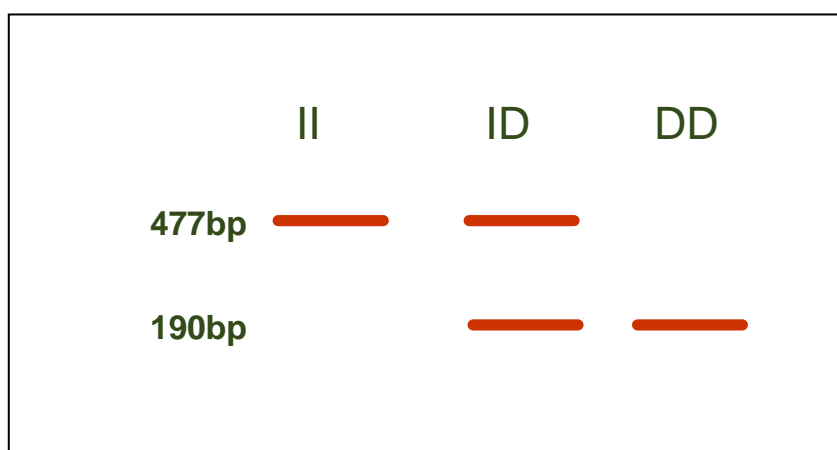
Uslovi reakcije za ispitivanje I/D polimorfizma gena za ACE su:

1. Početna denaturacija na 95°C 5 min
2. 35 ciklusa: a) denaturacija 1min na 94°C,
b) hibridizacija prajmera (aniling) 1 min na 63°C
c) sinteza novih lanaca (elongacija) 1 min na 72°C
3. Završna ekstenzija 7 min na 72°C

Kroz 35-40 ciklusa dobija se 10⁵ ciljne sekvence. Brzina ugradnje nukleotida pri elongaciji je 30-100 nukleotida u sekundi. PCR reakcije su izvršene u aparatu Applied Biosystems Thermal Cycler 2720.

Analiza PCR produkata čija je dužina u zavisnosti od prisustva/odsustva insercionog polimorfizma od 477/190 bazna para vršena je vertikalnom elektroforezom na 8% poliakrilamidnom gelu bojenom Syber safe-om i prosvetljenim na UV transiluminatoru i slikani digitalnom kamerom.

Shema 2. Prikaz rasporeda traka na gelu u zavisnosti od genotipa ACE I/D (248)



Statističke metode obrade podataka

U postupku statističke analize podataka korišćene su sledeće deskriptivne statističke metode: aritmetička sredina, standardna devijacija, 95% interval poverenja, distribucija frekvencija i procenti.

Za ispitivanje razlika između zavisnih u odnosu na nezavisne varijable korišćeni su χ^2 test, t-test za dva nezavisna uzorka i Man-Vitnijev U test u slučaju kada podaci nisu pripadali normalnoj raspodeli. Podaci su grafički prikazivani grafikonima u obliku histograma i box-plota.

Za ispitivanja promena nastalih u toku četiri merenja za vreme devetomesečnog praćenja (1, 3, 6 i 9 mesec) korišćena je analiza varijansnog količnika za ponovljena merenja sa jednim ili dva faktora (modalitet supstitucije gvožđa i I/D polimorfizam ACE genotipa) u modelu GLM. U slučaju kada podaci nisu pripadali normalnoj raspodeli korišćena je Fridmanova dvosmerna analiza varijanse sa rangovima.

Nivo statističke značajnosti u svim testovima je $p < 0.05$, a statistička obrada prikupljenih podataka urađena je uz pomoć programa IBM SPSS Statistics 21 (Statistical Package for Social Sciences, 2012).

4. REZULTATI

Istraživanjem je obuhvaćen 101 bolesnik na hroničnoj hemodijalizi sa anemijom koja je kontrolisana terapijom rHu eritropetinom beta, a koji su svrstavani postupkom proste randomizacije u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa: peroralnim preparatom gvožđa glukonata (Fe) – grupa Per os FE i intravenskom primenom gvožđe glukonata – grupa IV FE. Struktura bolesnika u odnosu na pol i I/D polimorfizam ACE genotipa po terapijskim grupama prikazana je u Tabeli 1.

U terapijskoj grupi koja je primala Fe peroralno bio je veći broj žena u odnosu na muškarce, dok je u drugoj grupi veći broj muškaraca. Ova razlika u distribuciji frekvencija bolesnika u odnosu na pol po terapijskim grupama je statistički značajna ($\chi^2=4.305$; $p=0.038$).

Polimorfizam I/D-ACE genotipa bolesnika prikazan je u dve (II/ID i DD genotip) i u tri kategorije (II; ID; DD), međutim, u oba slučaja ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji frekvencija bolesnika u odnosu na ACE genotip i modalitet terapije gvoždem ($\chi^2=0.168$, $p=0.682$ i $\chi^2=0.168$, $p=0.919$).

Od 101 bolesnika 35 imaju dijabetes melitus i skoro su podjednako zastupljeni u obe terapijske grupe, odnosno ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji frekvencija ($\chi^2=0.00$, $p=1.00$).

Tabela 1. Distribucija bolesnika po terapijskim grupama i pojavi dijabetesa (Struktura bolesnika u odnosu na pol i I/D polimorfizam ACE genotipa po terapijskim grupama i pojavi dijabetesa)

Varijable		Terapijska grupa FE		Značajnost
		Per os (n = 49)	IV (n=52)	
Pol	Ženski	28 (59.60%)	19 (40.40%)	$\chi^2=4.305$ p = 0.038
	Muški	21 (38.9%)	33 (61.1%)	
ACE genotip	II, DI	34 (47.2%)	38 (52.8%)	$\chi^2=0.168$ p = 0.682
	DD	15 (51.7%)	14 (48.3%)	
ACE genotip	II	8 (47.1%)	9 (52.9%)	$\chi^2=0.168$ p = 0.919
	DI	26 (47.3%)	29 (52.7%)	
	DD	15 (51.7%)	14 (48.3%)	
Dijabetes melitus	Nema	32 (48.5%)	34 (51.5%)	$\chi^2=0.00$ p = 1.00
	Ima	17 (48.6%)	18 (51.4%)	

U Tabeli 2 prikazana je distribucija frekvencija bolesnika u odnosu na dijagnozu osnovne bolesti bubrega. Kod 27 bolesnika dijagnoza je glomerulonefritis, kod 29 bolesnika nefroskleroza, kod 23 dijabetesna nefropatija, kod 10 tubulointersticijski nefritis, a policistična bolest bubrega kod 12 bolesnika. Ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji bolesnika u odnosu na terapijske grupe.

Tabela 2. Struktura bolesnika prema osnovnoj bolesti bubrega

Dijagnoza osnovne bolesti bubrega	Terapijska grupa FE		Ukupno
	Per os (n = 49)	IV (n=52)	
Glomerulonefritis	12 (44.40%)	15 (55.60%)	27
Nefroskleroza	17 (58.60%)	12 (41.40%)	29
Diabetesna nefropatija	9 (39.10%)	14 (60.90%)	23
Tubulointersticijalni nefritis	5 (50.00%)	5 (50.00%)	10
Policistična bolest bubrega	6 (50.00%)	6 (50.00%)	12
Ukupno	49 (48.50%)	52 (51.50%)	101 (100.00%)

Prosečna starost bolesnika u grupi na oralnoj terapiji gvožđem (Fe) iznosila je 57.08 godina sa odstupanjem od 14.13 godina, a u grupi na intravenskoj terapiji Fe 57.67 godina sa odstupanjem od 11.81 godina, ova razlika u prosečnim vrednostima godina nije statistički značajna (t-test=-0.229, p=0.820), Tabela 3.

Grupe su, takođe, bile ujednačene i po prosečnim vrednostima indeksa telesne mase (BMI, kg/m²), t-test =-0.250; p=0.803. U grupi na peroralnoj terapiji gvožđem prosečna vrednost BMI iznosila je 24.44 kg/m² sa odstupanjem od 3.63, dok u grupi na intravenskoj terapiji gvožđem prosečna vrednost BMI iznosila je 24.63 kg/m² sa odstupanjem od 4.13.

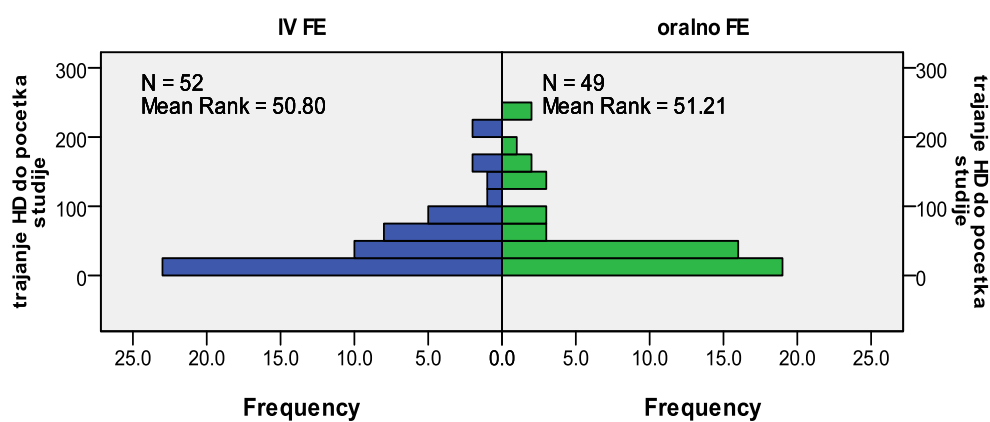
Tabela 3. Struktura bolesnika prema godinama, BMI i dužini lečenja hroničnom hemodijalizom

Tip terapije Fe	Statističke mere		Godine	BMI kg/m ²	HDT meseci
	N		49	49	49
Per os	Mean		57.08	24.44	52.78
	Median		60.00	23.83	30.00
	SD		14.13	3.63	59.80
	Minimum		22.00	15.99	2.00
	Maximum		81.00	36.65	248.00
	Percentiles	25	48.00	22.79	13.00
		50	60.00	23.83	30.00
	75	68.00	25.45	59.50	
IV	N		52	52	52
	Mean		57.67	24.63	49.12
	Median		55.50	24.73	32.00
	SD		11.81	4.13	51.15
	Minimum		32.00	16.40	2.00
	Maximum		79.00	33.41	224.00
	Percentiles	25	50.25	21.79	13.50
		50	55.50	24.73	32.00
	75	68.00	27.41	68.25	
Značajnost razlike			t-test = -0.229 p = 0.820	t-test = -0.250 p = 0.803	Mann-Whitney U = 1263.50 p = 0.943

Grupe su bile ujednačene i u odnosu na trajanje hemodijalize (HDT, meseci) do početka studije (Mann-Whitney U=1263.50; p=0.943), odnosno distribucija trajanja HDT je ista u obe terapijske kategorije. Karakteristika vrednosti HDT (meseci) kod bolesnika u obe grupe je veliki varijabilitet, u obe grupe standardna devijacije je veća od aritmetičke sredine za utvrđivanje eventualnih razlika primenjen je Mann Whitney U test, Tabela 3 i Grafikon 1.

Independent-Samples Mann-Whitney U Test

terapijske grupe



Grafikon 1. Trajanje hemodijalize (HDT meseci) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa, oralno gvožđe (Per os FE), intravensko gvožđe (IV FE)

Terapijske grupe su bile ujednačene u odnosu na postojanje pojedinih dimenzija glavnih neželjenih kardioloških događaja (*engl. major adverse cardiac events*; MACE), kao i kranijalnih i perifernih vaskularnih događaja, prikazanih u Tabeli 4.

Tabela 4. Struktura bolesnika u odnosu na prisustvo glavnih neželjenih kardioloških događaja (MACE) i kranijalnih i perifernih vaskularnih događaja

	Neželjeni događaj		Terapijska grupa *FE		Značajnost
			Per os (n = 49)	IV (n=52)	
MACE	Varijable				
	Stemi IM	Nema stemi IM	45 (48.90%)	47 (51.10%)	NSZ
		Ima stemi IM	4 (44.4%)	5 (55.6%)	
	Nonstemi IM	Nema	47 (48.0%)	51 (52.0%)	NSZ
		Ima	2 (66.7%)	1 (33.3%)	
	Angina pectoris	Nema	30 (50.8%)	29 (49.2%)	$\chi^2=0.309$ p = 0.578
		Ima	19 (45.2%)	23 (54.8%)	
	Atrijalna fibrilacija	Nema apsolutu	40 (45.5%)	48 (54.5%)	$\chi^2=2.564$ p = 0.109
		Ima apsolutu	9 (69.2%)	4 (30.8%)	
	Baypass Koronarnih arterija	Nema	47 (48.5%)	50 (51.5%)	NSZ
		Ima	2 (50.0%)	2 (50.0%)	
	Stent koronarne arterije	Nema	46 (47.9%)	50 (52.1%)	NSZ
Ima		3 (60.0%)	2 (40.0%)		
Srčana insuficijencija	Nema	39 (50.0%)	39 (50.0%)	$\chi^2=0.302$ p = 0.582	
	Ima	10 (43.5%)	13 (56.6%)		
Vaskularni događaj	Kranijalna vaskularna hemoragija	Nema	45 (48.4%)	49 (51.6%)	NSZ
		Ima	3 (50.0%)	3 (50.0%)	
	Periferna vaskularna bolest	Nema	38 (49.4%)	39 (50.6%)	$\chi^2=0.016$ p = 0.898
		Ima	11 (47.8%)	12 (52.2%)	

Početne hematološke karakteristike bolesnika dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

A. Obe terapijske grupe bile su ujednačene u odnosu na **pojedine hematološke parametre**.

Distribucija vrednosti RBC, HRC% i MCHC nije bila statistički značajno različita između grupa. Prosečne vrednosti HGB, HCT i MCV eritrocita nisu bile statistički značajno različite, Tabela 5. Takođe, obe terapijske grupe nadoknade Fe (gvožđa) bile su ujednačene u odnosu na parametre retikulocita. Distribucija vrednosti parametara, broj i % retikulocita i prosečne vrednosti CHr i MCVr, takođe nisu bile statistički značajno različite između terapijskih grupa gvožđa.

Tabela 5a. Hematološki parametri obe grupe bolesnika na početku ispitivanja (početne vrednosti hematoloških parametara u obe grupe bolesnika)

Hematološki parametri	Tip terapije Fe	N	Statističke mere	Značajnost razlike
RBC, broj eritrocita x 10 ¹² /L	Per os	49	3.42 (3.12 ÷ 3.86)	Z = -0.289, p=0.773
	IV	52	3.48 (2.97 ÷ 3.90)	
HGB , hemoglobin u krvi (g/L)	Per os	49	108.54 ± 17.82	t-test=0.731, p=0.467
	IV	52	105.81± 19.76	
HCT, hematokrit (L/L)	Per os	49	0.31 ± 0.054	t-test=0.583, p=0.561
	IV	52	0.31 ± 0.509	
HRC, hipohromni eritrociti (%)	Per os	49	1.35 (0.54 ÷ 2.47)	Z = -0.347, p=0.729
	IV	52	1.06 (0.61 ÷ 1.97)	
MCV, prosečni volume eritrocita (fL)	Per os	49	91.92 ± 5.07	t-test=1.626 p=0.177
	IV	52	92.41 ± 4.22	
MCHC, koncentracija hemoglobin u eritrocitima (g/L)	Per os	49	341.30 (339.00 ÷ 351.00)	Z = -0.626, p=0.531
	IV	52	342.00 (336.00 ÷ 348.75)	
Retikulociti				
Broj retikulocita x 10 ⁹ / L	Per os	49	55.50 (39.30 ÷ 87.25)	Z = -0.251, p=0.801
	IV	52	59.90 (46.93 ÷ 72.58)	
Ret %, retikulocit (%)	Per os	49	1.68 (1.09 ÷ 2.41)	Z = -0.272, p=0.786
	IV	52	1.87 (1.39 ÷ 2.38)	
CHCr, koncentracija hemoglobina u retikulocitima (g/L)	Per os	49	304.92 ± 9.795	t-test=1.233, p=0.210
	IV	52	302.35 ± 10.507	
CHr količina Hb u retikulocitima (pg/ćelija)	Per os	49	30.927 ± 1.137	t-test=1.601, p=0.107
	IV	52	30.650 ± 1.73	
MCVr srednji volumen retikulocita (fL)	Per os	49	101.98 ± 4.89	t-test=1.233, p=0.220
	IV	52	100.72 ± 5.34	

B. Terapijske grupe razlikovale su se u odnosu na pojedine parametre metabolizma gvožđa u prvom mesecu.

Distribucije vrednosti parametara gvožđa u serumu: sFe, TSAT i feritina u serumu bile su statistički značajno različite, naime, u grupi Per os FE medijane imaju značajno veće vrednosti nego u drugoj terapijskoj grupi IV FE. Prosečne vrednosti TIBC i transferina u serumu bile su statistički značajno veće u grupi na IV terapiji FE, u odnosu na drugu grupu (Per os FE).

Tabela 5b. Parametri metabolizma gvožđa u obe grupe bolesnika na početku ispitivanja

Metabolizam gvožđa	Tip terapije Fe	N	Statističke mere	Značajnost razlike
sFe, feremija (μmol/L)	Per os	49	12.30 (9.80 ÷ 14.00)	Z = -3.418, p=0.001
	IV	52	9.55 (6.725 ÷ 12.13)	
TIBC, kapacitet transferina za vezivanje Fe (μmol/L)	Per os	49	27.398 ± 7.70	t-test= -4.306, p=0.000
	IV	52	34.742 ± 9.31	
Transferin u serumu (g/L)	Per os	49	1.326 ± 0.356	t-test= - 4.515, p=0.000
	IV	52	1.70 ± 0.464	
TSAT, zasićenje transferina gvožđem, sFe/TIBCx100 (%)	Per os	49	45.93 (38.455 ÷ 60.785)	Z = -6.426, p=0.000
	IV	52	29.96 (23.42 ÷ 35.46)	
Feritin u serumu (ng/mL)	Per os	49	289.57 (102.22 ÷ 660.99)	Z = -2.874, p=0.004
	IV	52	116.55 (43.21 ÷ 328.55)	
sTfR, solubilni transferinski receptor (mg/L)	Per os	49	2.68 (1.82 ÷ 3.65)	Z = -0.602, p=0.547
	IV	52	2.95(2.26 ÷ 3.37)	
Ix sTrR/ Lg10feritin (%)	Per os	49	1.25 (0.766 ÷ 1.69)	Z = -1.152, p=0.249
	IV	52	1.46 (0.945 ÷ 1.83)	

Distribucija vrednosti parametara solubilni transferinski receptor (sTfR) i odnos solubilnog transferinskog receptora i serumskog feritina (Ix sTrRferitin) nije bila statistički značajno različita između grupa na početku studije.

Prema kriterijumima za uključanje bolesnika u ispitivanje (vidi metod), u studiju je uključen 101 bolesnik, a studiju je završilo 92 bolesnika. Tokom devet meseci trajanja ispitivanja na osnovu predviđenih kriterijuma 9 bolesnika je isključeno iz daljeg ispitivanja i to:

- u drugom mesecu studije jedan bolesnik i jedna bolesnica su prekinuli ispitivanje posle transplantacije bubrega (oba bolesnika iz grupe IV FE)
- 7 bolesnika zbog smrtnog ishoda:
 - u drugom mesecu egzistirao je jedan bolesnik iz terapijske grupe Per os FE posle hirurške revaskularizacije miokarda,
 - u četvrtom mesecu studije egzitirala su dva bolesnika iz grupe IV FE (jedan pod dijagnozom ishemijskog moždanog udara, jedan sa dijagnozom iznenadne srčane smrti) i jedna bolesnica sa dijagnozom hemoragijskog moždanog udara iz grupe Per os FE,
 - u petom mesecu studije egzitirala su dva bolesnika iz grupe IV FE, jedan bolesnik zbog poremećaja srčanog ritma i jedna bolesnica u akutnom infarktu miokarda,
 - u osmom mesecu egzitirala je jedna bolesnica iz grupe Per os FE sa dijagnozom intrakranijale hemoragije.

Tabela 6. Razlozi isključivanja iz ispitivanja

	Per os FE Mesec događaja (m)	IV FE
Tx bubrega		2m, 2m
Nesaradljivost i greške u randomizaciji		
Kardijalna smrt	2m	4m, 5m, 5m
CVI	4m, 8m	4m
Ukupni Exitus letalis	3 bolesnika	4 bolesnika

Tabela 7a. Početne vrednosti ispitivanih hematoloških parametara u dve terapijske grupe nadoknade gvožđa kod bolesnika koji su završili devetomesečnu terapiju (ukupno 92 bolesnika)

Hematološki parametri	Terapija	N, min, max, mean \pm SD	Značajnost razlike
	Fe	N, min – max, median (25 \pm 75) percetiles	
RBC, broj eritrocita x 10 ¹² /L	Per os	46; 2.17 – 5.67; 3.36 (3.18 \div 3.78)	Z = -0.211, p=0.883
	IV	46; 2.10 – 4.63; 3.48 (3.05 \div 3.91)	
HGB , hemoglobin u krvi (g/L)	Per os	46; 74.50 –169.00; 109.88 \pm 16.64	t-test=0.879, p=0.382
	IV	46; 60.70 – 145.00; 106.56 \pm 19.41	
HCT, hematokrit (L/L)	Per os	46; 0.218 – 0.510; 0.319 \pm 0.052	t-test=0.789, p=0.432
	IV	46; 0.174 – 0.413; 0.310 \pm 0.058	
HRC, hipohromni eritrociti (%)	Per os	46; 0.125 – 11.10; 1.37 (0.53 \div 2.53)	Z = -0.918, p=0.359
	IV	46; 0.112 – 5.60; 1.06 (0.53 \div 1.74)	
MCV, prosečni volume eritrocita (fL)	Per os	46; 81.9 – 101.0; 92.300 \pm 4.99	t-test=1.912 p=0.059
	IV	46; 78.4; 100.0; 90.437 \pm 4.37	
MCHC, koncentracija hemoglobin u eritrocitima (g/L)	Per os	46; 327.0 – 374.0; 341.50 (339.00 \div 352.25)	Z = -0.246, p=0.805
	IV	46; 328.0 – 362.0; 342.50 (338.25 \div 349.25)	
Retikulociti			
RETC broj retikulocita x 10 ⁹ /L	Per os	46; 11.2 – 159.0; 54.95 (38.95 \div 76.33)	Z = -0.465, p=0.642
	IV	46; 18.5 – 152.0; 59.35 (46.08 \div 73.25)	
%Rtc , retikulocit (%)	Per os	46; 0.36 – 4.91; 1.65 (1.07 \div 2.33)	Z = -0.92, p=0.623
	IV	46; 0.49 – 3.66; 1.63 (1.36 \div 2.39)	
CHCr, koncentracija hemoglobina u retikulocitima (g/L)	Per os	46; 282 – 326; 304.78 \pm 9.795	t-test=0.723, p=0.466
	IV	46; 281 – 322; 303.28 \pm 9.690	
CHr količina Hb u retikulocitima (pg/ćelija)	Per os	46; 28.9; 33.3; 31.20 (30.03 \div 31.70)	Z = -1.243, p=0.214
	IV	46; 25.7; 33.0; 30.65 (29.58 \div 31.60)	
MCVr srednji volumen retikulocita (fL)	Per os	46; 92.7 – 114.0; 102.23 \pm 4.95	t-test=1.486, p=0.141
	IV	46; 84.6 – 111.0; 100.63 \pm 5.37	

Tabela 7b. Parametri metabolizma gvožđa u obe grupe bolesnika na početku ispitivanja

Metabolizam gvožđa	Terapija Fe	N, min, max, mean \pm SD N, min – max, median (25 \pm 75) percentiles	Značajnost razlike
sFe, feremija (μ mol/L)	Per os	46; 5.10 – 27.80; 12.79 (9.26 \div 14.00)	Z = -3.003, p=0.003
	IV	46; 4.30 – 17.20; 10.32 (8.07 \div 12.90)	
TIBC, kapacitet transferina za vezivanje Fe (μ mol/L)	Per os	46; 16.7 – 56.0; 29.28 \pm 8.73	t-test=- 4.276, p=0.000
	IV	46; 16.0 – 55.4; 34.976 \pm 8.25	
Transferin u serumu (g/L)	Per os	46; 0.66 – 2.21; 1.358 \pm 0.344	t-test= - 4.354, p=0.000
	IV	46; 0.88 – 2.74; 1.716 \pm 0.441	
TSAT, zasićenje transferina gvožđem, sFe/TIBCx100 (%)	Per os	46; 23.43 – 68.31; 44.03 (37.18 \div 60.24)	Z = -5.927, p=0.000
	IV	46; 16.43 – 50.65; 29.12 (23.99 \div 35.01)	
Feritin u serumu (ng/mL)	Per os	46; 21.60 – 724.58; 277.05 (100.16 \div 514.40)	Z = -1.761, p=0.078
	IV	46; 18.40 – 739.0; 131.17 (78.99 \div 351.66)	
sTfR, solubilni transferinski receptor (mg/L)	Per os	46; 1.13 – 7.32; 2.68 (2.06 \div 3.74)	Z = -0.337, p=0.736
	IV	46; 1.29 – 7.13; 2.95 (2.21 \div 3.39)	
Ix sTrR/ Lg10feritin (%)	Per os	46; 0.45 – 3.61; 1.34 (0.88 \div 1.73)	Z = -0.674, p=0.500
	IV	46; 0.51 – 3.60; 1.34 (0.94 \div 1.77)	

Studiju su završili 92 ispitanika, od kojih je 46 bolesnika bilo na peroralnom Fe i 46 na IV Fe, nije uočena razlika u distribuciji pola ($H^2=3.54$, $p=0.06$), godina ($F=0.224$, $p=0.637$) i trajanja hemodijalize ($F=0.226$, $p=0.636$).

Bolesnici dve terapijske grupe Fe se nisu međusobno razlikovali prema vrednostima parametara krvne slike na početku terapije. Takođe, ulazni nivo feritina je bio sličan ($p=0.078$), kao i količina hemoglobina u retikulocitima (CHr), $p=0.214$ između terapijskih grupa na oralnom Fe i na IV Fe.

To ukazuje na komparabilne hematološke karakteristike, kao i na slične nivoe funkcionalnog raspoloživog i rezervnog Fe. Svi bolesnici uključeni u studiju ispunjavali su ulazne kriterijume vrednosti TSAT preko 15% i serumski feritin <800 ng/mL krvi.

Grupa na IV Fe imala je značajno niže početne vrednosti feremije, TIBC, transferina i TSAT (Tabele 7a,b).

Tabela 7c. Godine, pol i trajanje hemodijalize kod bolesnika koji su završili studiju

Bolesnici koji su završili studiju		Pol		Total
		žene	muškarci	
terapijske grupe	oralno FE	26	20	46
	IV FE	17	29	46
Total		43	49	92

Terapijske grupe		Godine	trajanje HD do početka studije
oralno FE	Mean	56,74	55,74
	N	46	46
	Std. Deviation	14,322	60,554
IV FE	Mean	58,04	50,11
	N	46	46
	Std. Deviation	12,015	52,862
Total	Mean	57,39	52,92
	N	92	92
	Std. Deviation	13,163	56,596

4.1. ANALIZA PROMENA POJEDINAČNIH HEMATOLOŠKIH PARAMETARA

4.1.1. Broj eritrocita u krvi (RBC x10¹²/l) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Broj eritrocita izražen u 10¹²/L, u grupi Per os FE kretao se od minimalnih 2.17 x10¹²/L do 5.67 x10¹²/L, prosečne vrednosti 3.44 x10¹²/L sa odstupanjem 0.60 x10¹²/L. Slično, u drugoj terapijskoj grupi IV FE, ove vrednosti iznosile su 2.17 x10¹²/L do 4.63 x10¹²/L, prosečna vrednost 3.42 x10¹²/L sa odstupanjem od 0.65 x10¹²/L. Nije postojala statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima broja eritrocita u dve terapijske grupe bolesnika (t-test=0.151; p = 0.881), Tabela 8.

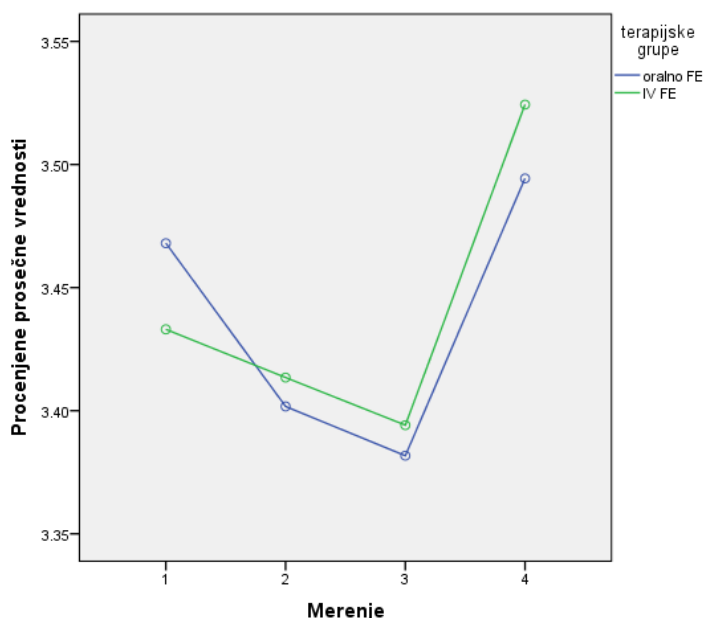
Tabela 8. Statističke mere kretanja procenjenih prosečnih vrednosti broja eritrocita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije	Statističke mere		RBC1m	RBC3m	RBC6m	RBC9m	
Per os	N		49	48	47	46	
	Missing		0	1	2	3	
	Mean		3.44	3.41	3.38	3.49	
	Median		3.34	3.39	3.35	3.52	
	SD		0.60	0.56	0.55	0.64	
	Minimum		2.17	1.92	2.12	1.60	
	Maximum		5.67	4.76	4.88	5.17	
	Percentiles	25		3.17	3.04	3.00	3.15
		50		3.34	3.39	3.35	3.52
75			3.80	3.78	3.71	3.87	
IV	N		52	50	46	46	
	Missing		0	2	6	6	
	Mean		3.42	3.43	3.39	3.52	
	Median		3.48	3.39	3.38	3.46	
	SD		0.65	0.55	0.47	0.47	
	Minimum		2.10	2.11	2.65	2.55	
	Maximum		4.63	4.95	4.62	4.47	
	Percentiles	25		2.97	3.08	3.03	3.11
		50		3.48	3.39	3.38	3.46
75			3.90	3.77	3.74	3.97	

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti broja eritrocita (RBC) u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti mesec) između dve terapijske grupe. Model promena vrednosti broja eritrocita (RBC) u obe terapijske grupe je isti, između prvog i trećeg meseca evidentan je pad prosečnih vrednosti broja eritrocita (RBC), pad se nastavlja i u periodu od 3. do 6. meseca, a zatim sledi statistički značajan porast prosečnih vrednosti broja eritrocita (RBC). Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe koje su imali rezultate sva četiri merenja, ukupno 92 bolesnika (Tabela 9, Grafikon 2).

Tabela 9. Značajnost promena procenjenih aritmetičkih sredina između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9 mesec) i terapijskih grupa Fe

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.918	0.341
	Merenje2 vs. Merenje3	0.266	0.608
	Merenje3 vs. Merenje4	7.089	0.009
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.272	0.603
	Merenje2 vs. Merenje3	0	0.993
	Merenje3 vs. Merenje4	0.037	0.847



Grafikon 2. Promene procenjenih prosečnih vrednosti broja eritrocita u dve terapijske grupe Fe tokom 9 meseci

Zaključak. Srednje vrednosti broja eritrocita bile su u okviru preporučenih za bolesnike na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom, prema K/DIGO kriterijumima, u sva 4 merenja tokom perioda praćenja 9 meseci. Dinamika promene broja eritrocita je slična u dve terapijske grupe gvožđa. U obe grupe se uočava kasni – odloženi značajni porast broja eritrocita u poslednjem trimestru.

4.1.2. Koncentracija hemoglobina u eritrocitima, hemoglobin (HGB g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

U Tabeli 10 prikazane su statističke mere nivoa hemoglobina (HGB) u obe terapijske grupe, za sva merenja posebno.

U grupi bolesnika koja je bila na peroralnoj terapiji gvoždem - Per os FE, prosečna vrednost hemoglobina (HGB) iznosila je 108.55 g/L sa odstupanjem od 17.82g/L, dok u drugoj terapijskoj grupi – IV FE ove vrednosti iznosile su 105.81 g/L sa odstupanjem od 18.76 g/L. Na početku studije razlike između prosečnih nivoa hemoglobina (HGB1m) u dve terapijske grupe Fe nisu bile statistički značajne (t-test = 0.731 p= 0.476), Tabela 10.

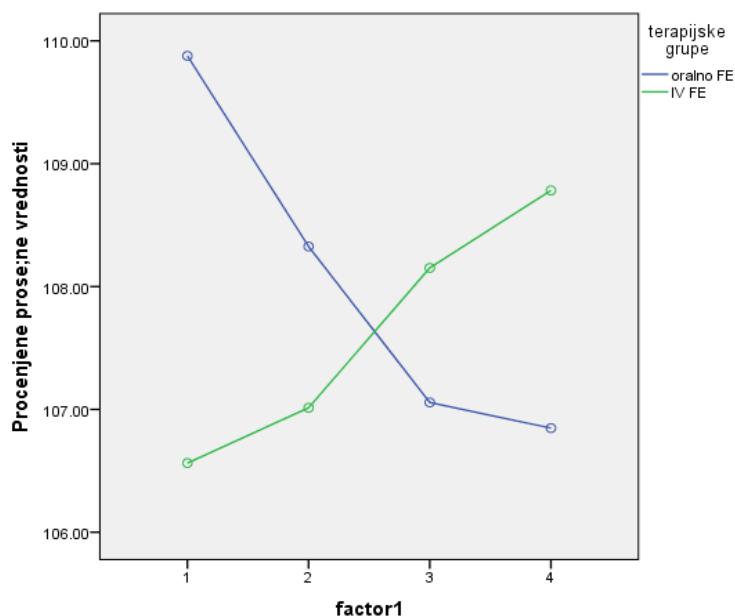
Tabela 10. Kretanje procenjenih srednjih vrednosti koncentracije hemoglobina u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		HGB1m g/L	HGB3m g/L	HGB6m g/L	HGB9m g/L
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		108.55	108.19	106.76	106.85
	Median		107.00	108.50	107.00	111.50
	SD		17.82	16.02	16.04	17.70
	Minimum		64.00	69.40	73.80	53.00
	Maximum		169.00	149.00	143.00	139.00
	Percentiles	25	99.20	97.73	93.70	96.75
		50	107.00	108.50	107.00	111.50
		75	116.50	116.75	119.00	120.00
IV	N		52	50	46	46
	Missing		0	2	6	6
	Mean		105.81	107.47	108.15	108.78
	Median		108.00	106.00	108.00	108.00
	SD		19.76	16.03	14.67	14.96
	Minimum		60.70	67.00	80.90	73.00
	Maximum		145.00	147.00	141.00	137.00
	Percentiles	25	89.55	97.28	97.25	97.00
		50	108.00	106.00	108.00	108.00
		75	121.75	116.25	121.00	119.25

Za ispitivanje promena prosečnih nivoa hemoglobina (HGB) u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti mesec) i između terapijskih grupa Fe koristili smo dvofaktorsku analizu varijanse za ponovljena merenja. Model promena u obe terapijske grupe nije isti, međutim, promene koje se vide i na Grafikonu 3 nisu bile statistički značajne (Tabela 11).

Tabela 11. Značajnost promena koncentracija hemoglobina između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9 mesec) i terapijskih grupa

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.185	0.668
	Merenje2 vs. Merenje3	0.003	0.954
	Merenje3 vs. Merenje4	0.023	0.879
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.611	0.436
	Merenje2 vs. Merenje3	1.12	0.293
	Merenje3 vs. Merenje4	0.185	0.668



Grafikon 3. Promene procenjenih prosečnih vrednosti nivoa hemoglobina u obe terapijske grupe Fe tokom 9 meseci

Zaključak. Nivoi hemoglobina u krvi bili su zadovoljavajući u obe terapijske grupe Fe, sa sličnim vrednostima i dinamikom, koja ukazuje na stabilan nivo hemoglobina tokom 9 meseci praćenja, u okviru preporučenih vrednosti (105-110 g/L) za bolesnike na hemodijalizi na supstituciji eritropoetinom.

4.1.3. Volumen eritrocita u jedinici pune krvi, Hematokrit (HCT L/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere nivoa hematokrita (HCT L/L) za dve terapijske grupe gvožđa, Per os FE i IV FE u sva četiri merenja prikazane su u Tabeli 12.

Prosečna vrednost hematokrita (HCT) u grupi pacijenata na per os terapiji FE iznosila je 0.32 L/L sa odstupanjem od 0.05 L/L, dok je prosečna vrednost u grupi IV FE bila nešto niža 0.31 L/L, sa odstupanjem od 0.06 L/L. Ova razlika nije bila statistički značajna (t-test=0.583, p =0.583). Ni u jednom od sledećih merenja na postoji statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima hematokrita (HCT), Tabela 12.

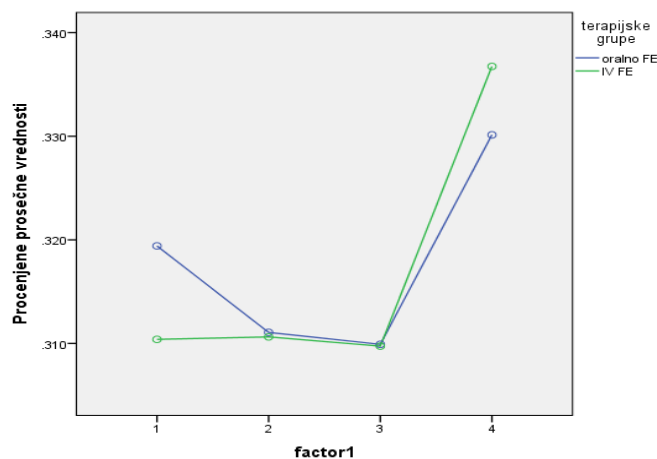
Tabela 12. Statističke mere kretanja procenjenih prosečnih vrednosti hematokrita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		HCT1m L/L	HCT3m L/L	HCT6m L/L	HCT9m L/L
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		0.32	0.31	0.31	0.33
	Median		0.31	0.31	0.31	0.34
	SD		0.05	0.05	0.05	0.06
	Minimum		0.19	0.20	0.21	0.16
	Maximum		0.51	0.43	0.41	0.45
	Percentiles	25	0.29	0.28	0.27	0.30
		50	0.31	0.31	0.31	0.34
		75	0.34	0.34	0.34	0.37
IV	N		52	50	46	46
	Missing		0	2	6	6
	Mean		0.31	0.31	0.31	0.34
	Median		0.32	0.31	0.31	0.33
	SD		0.06	0.05	0.05	0.05
	Minimum		0.17	0.19	0.23	0.24
	Maximum		0.41	0.45	0.43	0.44
	Percentiles	25	0.27	0.28	0.27	0.31
		50	0.32	0.31	0.31	0.33
		75	0.35	0.33	0.35	0.38

Za ispitivanje promena prosečnih nivoa vrednosti hematokrita (HCT) u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9 mesec) i između dve terapijske grupe Fe, koristili smo dvofaktorsku analizu varijanse za ponovljena merenja. Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe. Model promena u obe terapijske grupe je sličan. Između prvog i trećeg meseca došlo je do pada prosečnih vrednosti hematokrita (HCT) u grupi bolesnika na oralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE), a u drugoj grupi (grupa IV FE) nastao je neznatan porast. Od 3. do 6. meseca promene su po sličnom modelu, pri čemu je između šestog i devetog meseca došlo do statistički značajne promene, koja se vidi i u Tabeli 13 i na Grafikonu 4.

Tabela 13. Značajnost promena hematokrita (HCT L/L) između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9 mesec) i terapijskih grupa

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	1.033	0.312
	Merenje2 vs. Merenje3	0.099	0.754
	Merenje3 vs. Merenje4	26.615	0,000
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	1.159	0.285
	Merenje2 vs. Merenje3	0.002	0.968
	Merenje3 vs. Merenje4	0.549	0.461



Grafikon 4. Promene procenjenih prosečnih vrednosti hematokrita u obe terapijske grupe Fe tokom 9 meseci

Zaključak: Vrednosti hematokrita su zadovoljavajuće i slične tokom 9 meseci praćenja u obe terapijske grupe gvožđa sa statistički značajnim porastom u poslednjem trimestru.

4.1.4. Prosečni volumen eritrocita, mean cell volume (MCV fL) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere prosečnog volumena eritrocita (MCV) za sve četiri merenja prikazane su u Tabeli 14. Prosečna vrednosti MCV u grupi bolesnika na per os terapiji Fe– grupa Per os FE iznosila je 91.92 fL sa odstupanjem od 5.07 fL, dok u drugoj grupi – grupa IV FE prosečna vrednost iznosi 90.41 fL, sa odstupanje od 4.22 fL. Ova razlika nije statistički značajna (t-test = 1.635 p=0.105), a nisu statistički značajne ni razlike aritmetičkih sredina u sva tri sledeća vremena, Tabela 14.

Tabela 14. Statističke mere promene procenjenih prosečnih vrednosti volumena eritrocita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		MCV1m f/L	MCV3m f/L	MCV6m f/L	MCV9m f/L
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		91.92	91.49	91.83	94.66
	Median		90.50	90.90	91.60	95.60
	SD		5.07	5.50	5.30	5.35
	Minimum		81.90	80.20	77.40	85.70
	Maximum		101.00	106.00	101.00	107.00
	Percentiles	25	87.85	87.83	88.80	89.95
		50	90.50	90.90	91.60	95.60
		75	96.00	95.28	96.40	98.45
IV	N		52	50	46	46
	Missing		0	2	6	6
	Mean		90.41	91.21	91.15	95.51
	Median		90.05	90.95	90.25	96.00
	SD		4.22	4.09	3.86	3.91
	Minimum		78.40	84.10	84.10	88.70
	Maximum		100.00	101.00	102.00	103.90
	Percentiles	25	87.40	87.83	88.65	91.75
		50	90.05	90.95	90.25	96.00
		75	92.88	94.10	93.10	98.85

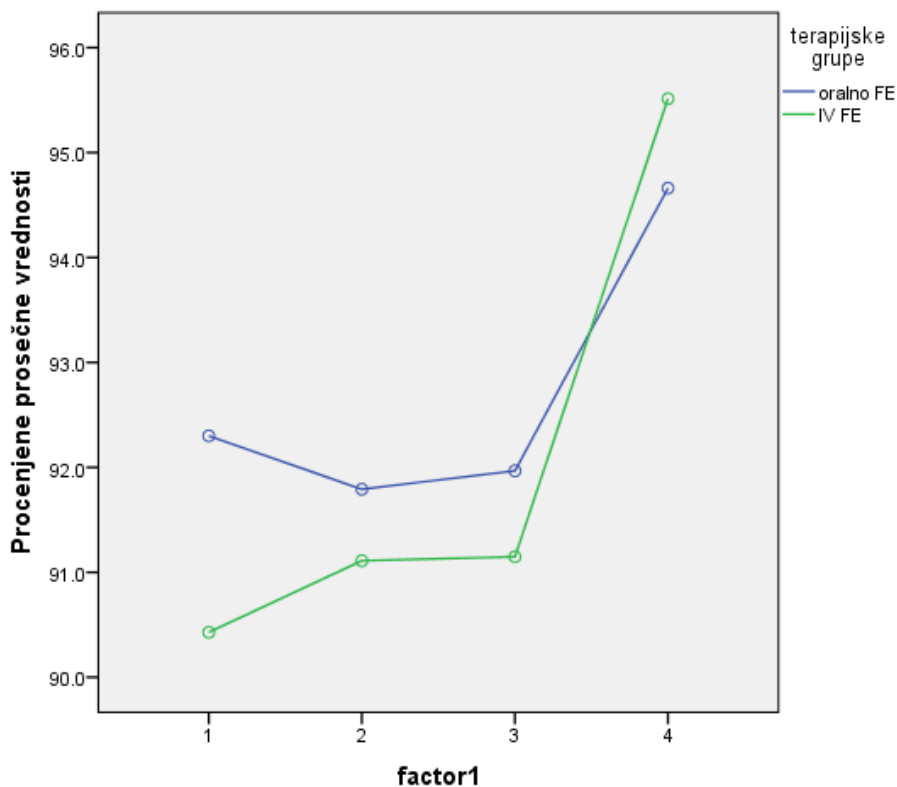
Rezultati primene analize varijanse za ponovljena vremena prikazani su u Tabeli 15 i na Grafikonu 5.

Model promene vrednosti prosečnog volumena eritrocita (MCV) od prvog do trećeg meseca u grupi bolesnika koji su primali peroralne preparate FE – grupa Per os FE (pad prosečne vrednosti) drugačiji je od modela promene MCV eritrocita u drugoj terapijskoj grupi –IV FE (porast prosečnih vrednosti).

Razlika u modelu promene je statistički značajna. Takođe, promene nastale u prosečnim vrednostima između šestog i devetog meseca su statistički značajne ($F=107.57$ $p = 0.00$). Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe, ukupno 92 bolesnika.

Tabela 15. Značajnost promena prosečnog volumena eritrocita (MCV) između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) i terapijskih grupa

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.09	0.77
	Merenje2 vs. Merenje3	0.14	0.71
	Merenje3 vs. Merenje4	107.57	0.00
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	4.23	0.04
	Merenje2 vs. Merenje3	0.06	0.81
	Merenje3 vs. Merenje4	6.03	0.02



Grafikon 5. Promene procenjenih prosečnih vrednosti prosečnog volumena eritrocita u dve terapijske grupe Fe tokom 9 meseci

Zaključak. Kako su povećanja MCV u grupi na peroralnoj terapiji Fe, slično grupi na IV terapiji Fe u poslednjem trimestru dosegla gornje granične referentne vrednosti ($p=0.00$), takva promena na eritrocitima može da ukaže na poremećaj u efikasnosti stimulacije eritropoeze rHu eritropoetinom beta u tom periodu, pre nego na poremećaj u metabolizmu Fe. Uvećanje MCV bilo je značajno veće u grupi na IV terapiji Fe u poslednjem trimestru ($p=0.02$). Pad MCV prema donjoj referentnoj granici kod bolesnika na oralnoj terapiji Fe u prvom trimestru može da ukaže na relativni nedostatak Fe ($p=0.04$).

4.1.5. Prosečna koncentracija HGB u eritrocitima, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika, na hemodijalizi na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere ovog parametra za obe grupe bolesnika u sva četiri vremena prikazane su u Tabeli 16. Primena K-S testa pokazala je da se vrednosti statistički značajno ne razlikuju od normalne raspodele. Prosečna vrednost koncentracije HGB u eritrocitima (MCHC) u prvoj grupi – grupa Per os FE iznosila je 344.31 g/L sa odstupanjem od 9.24 g/L i ona je nešto viša od one u drugoj grupi – grupa IV FE (342.79 g/L i $p = 8.47$), pri čemu ova razlika nije statistički značajna (t -test =0.862; $p=0.391$), isti zaključak se odnosi i rezultate poređenje za ostala tri merenja.

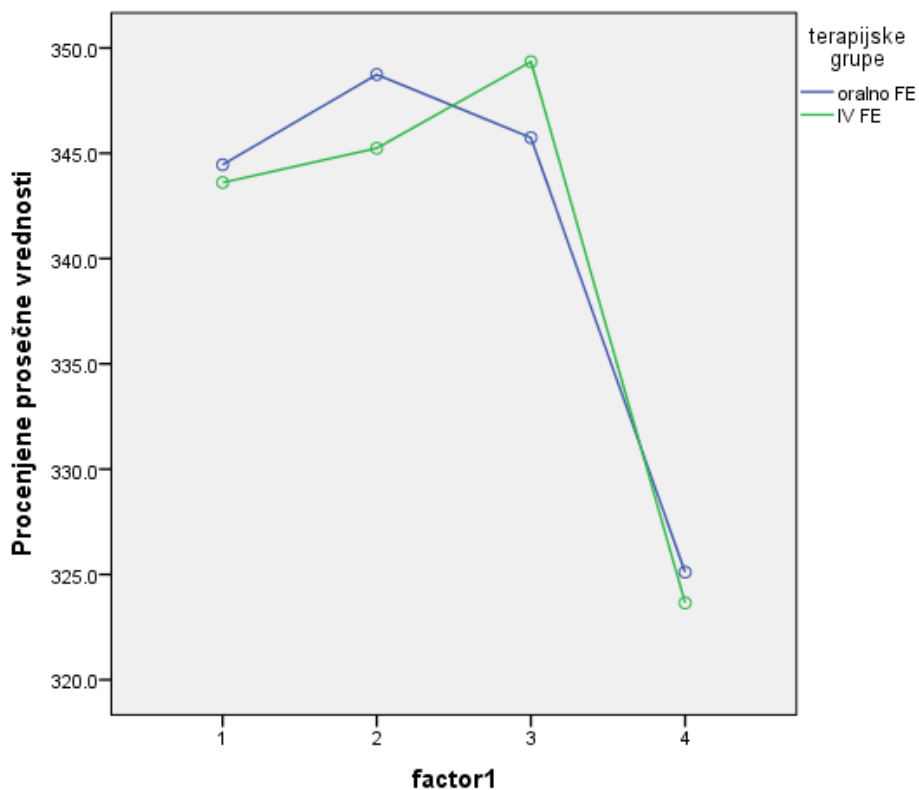
Tabela 16. Statističke mere kretanja prosečnih procenjenih vrednosti prosečne koncentracije hemoglobina u eritrocitima u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		MCHC1m g/L	MCHC3m g/L	MCHC6m g/L	MCHC9m g/L
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		344.31	348.71	345.57	325.11
	Median		341.00	347.00	346.00	329.00
	SD		9.24	9.81	10.27	14.79
	Minimum		327.00	326.00	315.00	289.00
	Maximum		374.00	377.00	365.00	356.00
	Percentiles	25	339.00	342.25	342.00	316.50
		50	341.00	347.00	346.00	329.00
	75	351.50	356.25	352.00	334.25	
IV	N		52	50	46	46
	Missing		0	2	6	6
	Mean		342.79	344.88	349.35	323.65
	Median		342.00	345.00	349.00	322.50
	SD		8.47	10.29	11.23	16.13
	Minimum		328.00	322.00	322.00	296.00
	Maximum		362.00	373.00	376.00	360.00
	Percentiles	25	336.00	337.75	344.50	309.75
		50	342.00	345.00	349.00	322.50
	75	348.75	352.00	356.00	336.25	
K-S test			0.075	0.083	0.068	0.047
P			0.179	0.096	0.200	0.200

Rezultati primene analize varijanse za ponovljena vremena prikazani su u Tabeli 17 i na Grafikonu 6. Model promene vrednosti između prvog i trećeg meseca nije bio statistički značajan, promene nastale od trećeg do šestog meseca koncentracije HGB u eritrocitima (MCHC), na nivou obe grupe, statistički su značajne ($F=0.63$ i $p=0.00$). Naime, u grupi bolesnika koji su primali per os terapiju – grupa Per os FE (pad prosečne vrednosti) koncentracije HGB u eritrocitima (MCHC) drugačiji je od modela promene u drugoj terapijskoj grupi – grupa IV FE (porast). Takođe, promene nastale u prosečnim vrednostima koncentracije HGB u eritrocitima (MCHC) između šestog i devetog meseca statistički su značajne ($F=0.1$; $p=0.03$). Analizom je obuhvaćeno 46 bolesnika iz obe grupe, ukupno 92 bolesnika.

Tabela 17. Značajnost promena između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9 mesec) i terapijskih grupa

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.00	0.09
	Merenje2 vs. Merenje3	0.63	0.00
	Merenje3 vs. Merenje4	0.00	0.72
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.18	0.02
	Merenje2 vs. Merenje3	0.00	0.10
	Merenje3 vs. Merenje4	0.10	0.03



Grafikon 6. Promene procenjenih prosečnih vrednosti prosečne koncentracije hemoglobina u eritrocitima u dve terapijske grupe Fe tokom 9 meseci

Zaključak. Promene u vrednostima koncentracije HGB u eritrocitima (MCHC) u prva 3 meseca su malih apsolutnih vrednosti i nemaju klinički značaj. U poslednjem trimestru se u obe grupe uočava pad koncentracije HGB u eritrocitima (MCHC), nepromenjena koncentracija hemoglobina u krvi i povećan broj eritrocita, hematokrit i MCV eritrocita. To ukazuje na moguće slabiju efikasnost terapije eritropoetinom i pored povećanog obima eritropoeze u poslednjem trimestru (od 6og do 9og meseca).

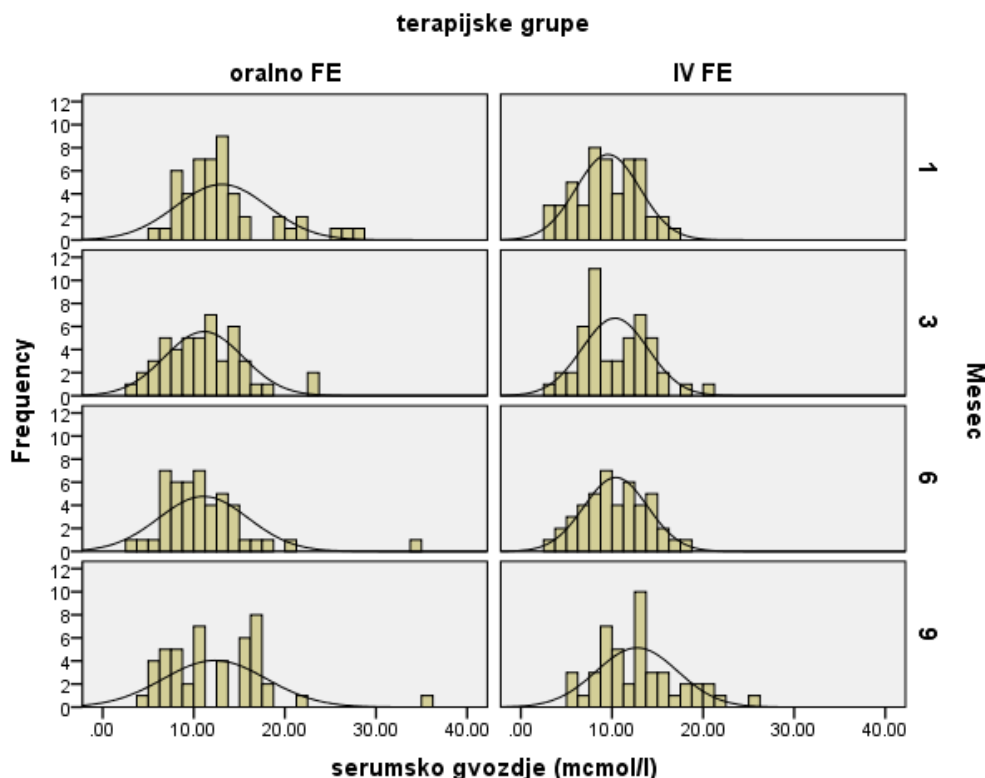
4.1.6. Feremija, serumsko gvožđe (sFe $\mu\text{mol/L}$) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere serumskog gvožđa (sFe) date su u Tabeli 18 i Grafikonu 7, prikazane su u obliku *box-plot* grafikona. Podaci dobijeni u prva dva merenja, statistički, značajno su se razlikovale od normalne raspodele (K-S test₁ =0.132 i p=0.000; K-Stest₂=0.102 i p=0.014), a raspodela podataka u ostala dva merenja nije bila statistički značajno različita od normalne raspodele.

Tabela 18. Statističke mere kretanja prosečnih procenjenih vrednosti feremije u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		sFe1m $\mu\text{mol/L}$	sFe3m $\mu\text{mol/L}$	sFe6m $\mu\text{mol/L}$	sFe9m $\mu\text{mol/L}$
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		13.06	10.98	11.06	12.31
	Median		12.30	10.77	10.51	11.15
	SD		5.06	4.50	4.92	5.67
	Minimum		5.10	1.56	3.42	3.80
	Maximum		27.80	23.20	34.16	35.80
	Percentiles	25	9.80	7.48	8.29	7.58
		50	12.30	10.77	10.51	11.15
	75	14.00	13.89	13.26	16.35	
IV	N		52	49	45	46
	Missing		0	3	7	6
	Mean		9.56	10.32	10.42	12.74
	Median		9.55	9.75	10.15	12.60
	SD		3.50	3.64	3.50	4.46
	Minimum		3.10	3.65	3.50	5.10
	Maximum		17.20	20.05	18.46	25.30
	Percentiles	25	6.73	7.64	7.57	9.78
		50	9.55	9.75	10.15	12.60
	75	12.13	13.24	13.11	15.03	
K-S test			0.132	0.102	0.075	0.070
P			0.000	0.014	0.200	0.200
Srednji rank – Oralna terapija FE			61.27	51.36	46.95	45.03
Srednji rank – IV terapija FE			41.33	46.68	46.03	47.97
Z			-3.418	-0.819	-0.164	-0.527
Značajnost razlike			0.001	0.413	0.870	0.598
Fridmanov test za četiri merenja			$\chi^2 = 9.587, p = 0.022$			

Početna medijana serumskog Fe (sFe) u grupi koja je primala peroralni preparat gvožđa (grupa Per os FE) iznosila je 12.30 $\mu\text{mol/L}$, 25 percentil 9.80 $\mu\text{mol/L}$, a 75 percentil 14.00 $\mu\text{mol/L}$. U drugoj grupi bolesnika (grupa IV FE), medijana je iznosila 9.55 $\mu\text{mol/L}$, 25 percentil 6.73 $\mu\text{mol/L}$ a 75 percentil 12.13 $\mu\text{mol/L}$, što su niže vrednosti od grupe na peroralnom FE.



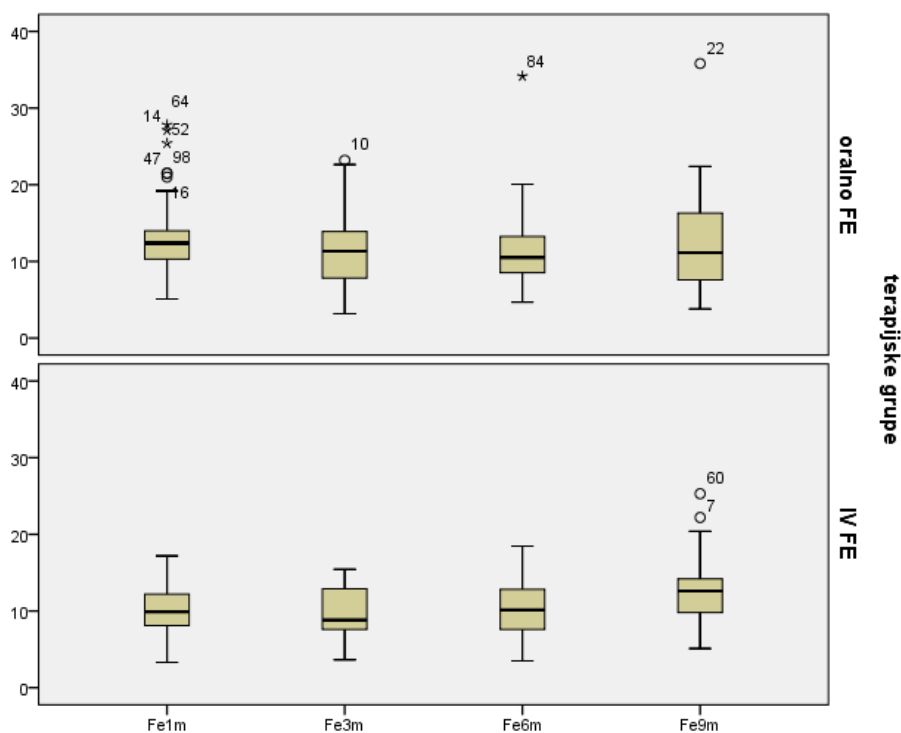
Grafikon 7. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti feremije između dve terapijske grupe Fe, kao histogram frekvencija

Za poređenje vrednosti serumskog gvožđa (sFe) bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test, koji testira nultu hipotezu da je distribucija vrednosti serumskog gvožđa (sFe) bila ista u obe terapijske grupe. Nultu hipotezu u slučaju prvog merenja smo odbacili ($Z=-3.418$; $p=0.001$). U prilog ovome govore i odgovarajuće vrednosti srednjeg ranga za grupe Per os Fe i IV Fe (61.27 i 41.33). U slučaju ostala tri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti serumskog gvožđa (sFe) nisu bile statistički različite između terapijskih grupa.

U grupi na peroralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE) od 46 bolesnika i 45 bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE) imalo je vrednosti za sva četiri merenja, ukupno 91 bolesnik (Tabela 18, Grafikon 7).

Primenom Wilcoxonovog testa sa rangovima zaključujemo da je u grupi na peroralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE) između prvog i drugog merenja došlo je do statistički značajnog snižavanja vrednosti ($Z=-2.103$, $p=0.035$), što se može videti i na Grafikonu 8. Između ostalih merenja nije bilo statistički značajne promene.

U drugoj grupi sa 45 bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE), statistički značajne promene (porast vrednosti FE) su nastale između trećeg i četvrtog merenja, što je evidentno i na box-plot grafikonu 8.



Grafikon 8. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika feremije (sFe) između terapijskih grupa gvožđa tokom 9 meseci

Korišćenjem Fridman-ove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu i zaključili da ta raspodela nije bila identična

(Fridmanov test $\chi^2 = 9.59$, $p = 0.02$). Promene su nastale između trećeg i četvrtog merenja, kada nastaje povećanje vrednosti sFe na nivou svih 92 bolesnika.

Zaključak. Serumsko Fe bilo je značajno niže u grupi na intravenskom Fe na početku studije, razlike iščezavaju u prvom trimestru terapije. U grupi na IV gvožđu serumsko Fe je stabilno tokom studije (sa povećanjem u poslednjem trimestru), a u grupi na peroralnom gvožđu uočeno je opadanje serumskog Fe na početku terapije, zatim je stabilno.

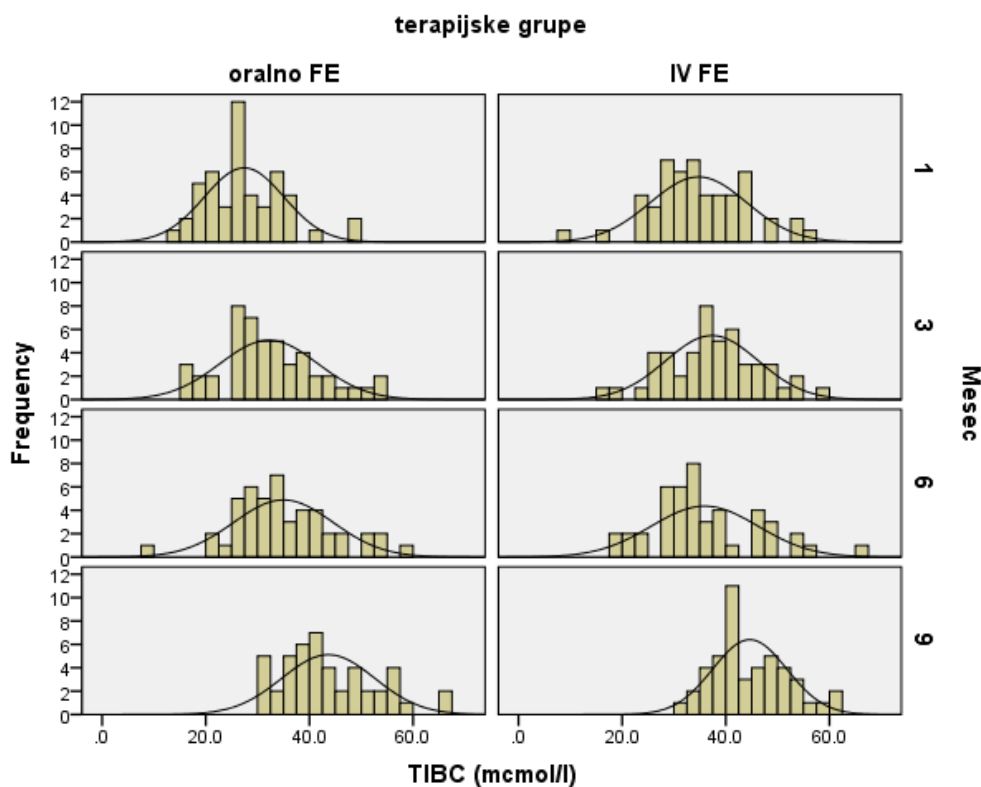
4.1.7. Ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa, Total iron binding capacity (TIBC $\mu\text{mol/L}$) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere ukupnog kapaciteta za vezivanje gvožđa (TIBC) prikazane su u Tabeli 19 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 9), vrednosti TIBC statistički se značajno razlikuju od normalne raspodele u 6om (K-Stest₃= 0.114; p= 0.005) i 9om mesecu (K-Stest₄=0.121; p=0.002), to nije slučaj u prvom i trećem mesecu.

Tabela 19. Statističke mere kretanja prosečnih procenjenih vrednosti ukupnog kapaciteta za vezivanje gvožđa (TIBC) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		TIBC1m $\mu\text{mol/L}$	TIBC3m $\mu\text{mol/L}$	TIBC6m $\mu\text{mol/L}$	TIBC9m $\mu\text{mol/L}$
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		27.19	32.17	34.97	43.63
	Median		26.80	31.20	33.10	41.10
	SD		7.98	9.44	9.59	8.97
	Minimum		11.80	15.10	8.10	30.00
	Maximum		49.40	52.90	59.30	66.20
	Percentiles	25	21.15	26.23	29.40	36.90
		50	26.80	31.20	33.10	41.10
	75	32.65	38.18	41.00	49.88	
IV	N		52	49	45	46
	Missing		0	3	7	6
	Mean		34.17	37.34	35.92	44.62
	Median		33.45	37.20	34.00	42.65
	SD		10.02	8.93	10.30	7.16
	Minimum		7.70	16.00	17.60	31.60
	Maximum		55.40	58.00	65.00	60.30
	Percentiles	25	28.23	31.25	28.90	39.70
		50	33.45	37.20	34.00	42.65
	75	41.03	42.85	43.90	49.93	
K-S test			0.070	0.051	0.114	0.121
P			0.200	0.200	0.005	0.002
Srednji rank – Oralna terapija			38.20	40.69	45.45	43.85
Srednji rank – IV terapija			63.06	57.14	47.60	49.15
Z			-4.261	-2.879	-0.387	-0.953
Značajnost razlike			0.000	0.004	0.699	0.341
Fridmanov test za četiri merenja	$\chi^2 = 9.587, p = 0.022$					

Vrednost medijane u grupi bolesnika na oralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE) iznosila je 26.80 $\mu\text{mol/L}$, 25 percentil 21.15 $\mu\text{mol/L}$ a 75 percentil 32.65 $\mu\text{mol/L}$. U grupa IV FE, vrednost medijane TIBC bila je veća (33.45 $\mu\text{mol/L}$), a takođe i 25 percentil 28.23 $\mu\text{mol/L}$ i 75 percentil 41.03 $\mu\text{mol/L}$.



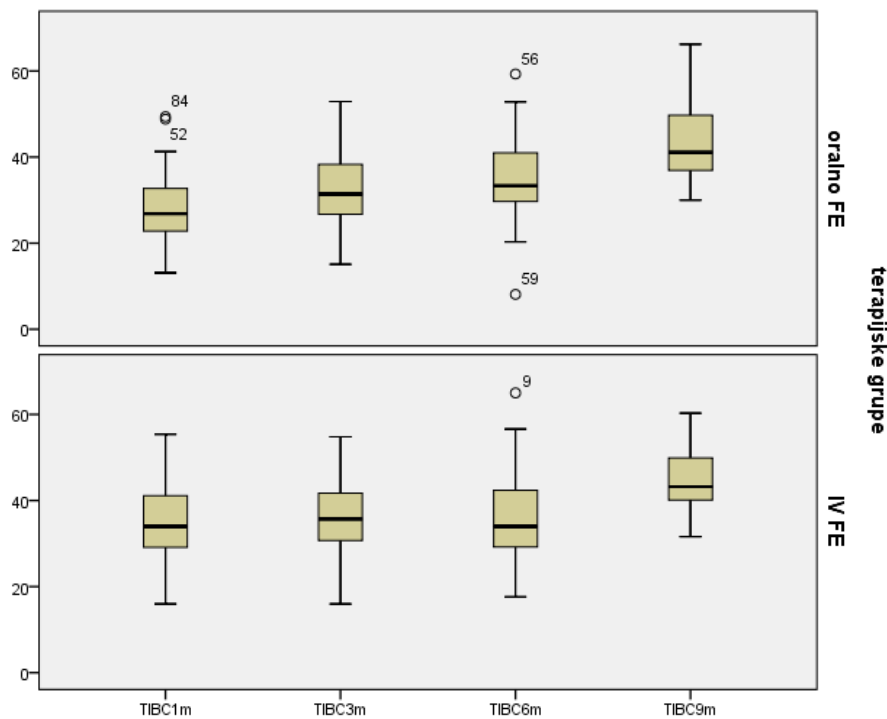
Grafikon 9. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti ukupnog kapaciteta za vezivanje gvožđa (TIBC) između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Uvidom u tabelu zaključujemo da je 46 bolesnika u grupi na peroralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE) i 45 bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE) imalo vrednosti za sva četiri merenja.

Za poređenje vrednosti ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC) kod bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test.

Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC) ista u obe terapijske grupe, nultu hipotezu u slučaju prvog ($Z=-4.261$; $p = 0.000$) i drugog merenja ($Z= -2.879$; $p = 0.004$) smo odbacili. U slučaju

ostala dva merenja nismo imali razloga za odbacivanjem nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC) nisu bile statistički međusobno različite.



Grafikon 10. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika za parametar TIBC između terapijskih grupa Fe

Korišćenjem Fridman-ove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili smo da ta raspodela nije bila identična (Fridmanov test $\chi^2=122.851$ $p=0.000$). Između prvog i drugog merenja nastao je statistički značajan porast ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC), ($p=0.002$), između drugog i trećeg merenja nije uočen značajan porast, a između trećeg i četvrtog merenja porast vrednosti ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC) bio je statistički značajan ($p=0.000$).

U grupi na peroralnoj terapiji Fe između svakog merenja dolazilo je do statistički značajnog povećanja vrednosti ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC) ($p_{12}=0.000$; $p_{23}=0.041$ i $p_{34}=0.000$), što je prikazano na box-plot Grafikonu 10.

U drugoj grupi bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe – grupa IV FE od prvog do trećeg merenja nije bilo značajnijeg porasta ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC), porast je nastao između trećeg i četvrtog merenja ($p=0.000$), (Grafikon 10). Vrednost medijane u grupi bolesnika na oralnom Fe (grupa Per os FE) iznosila je $26.80 \mu\text{mol/L}$, 25 percentil $21.15 \mu\text{mol/L}$ a 75 percentil $32.65 \mu\text{mol/L}$. U drugoj grupi (grupa IV FE), vrednost medijane bila je veća $33.45 \mu\text{mol/L}$, a takođe i 25 percentil $28.23 \mu\text{mol/L}$ i 75 percentil $41.03 \mu\text{mol/L}$.

Zaključak. Grupa Per os Fe imala je niži početni ukupni kapacitet seruma za vezivanje gvožđa (TIBC). Vrednosti su se značajno povećavale primenom peroralnog Fe prva 3 meseca, dok su bile stabilne na IV Fe i ostvaruju odloženi porast u trećem trimestru terapije.

4.1.8. Procenat zasićenja transferina gvoždem (transferrin saturation levels, TSAT %, sFe/TIBCx100) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

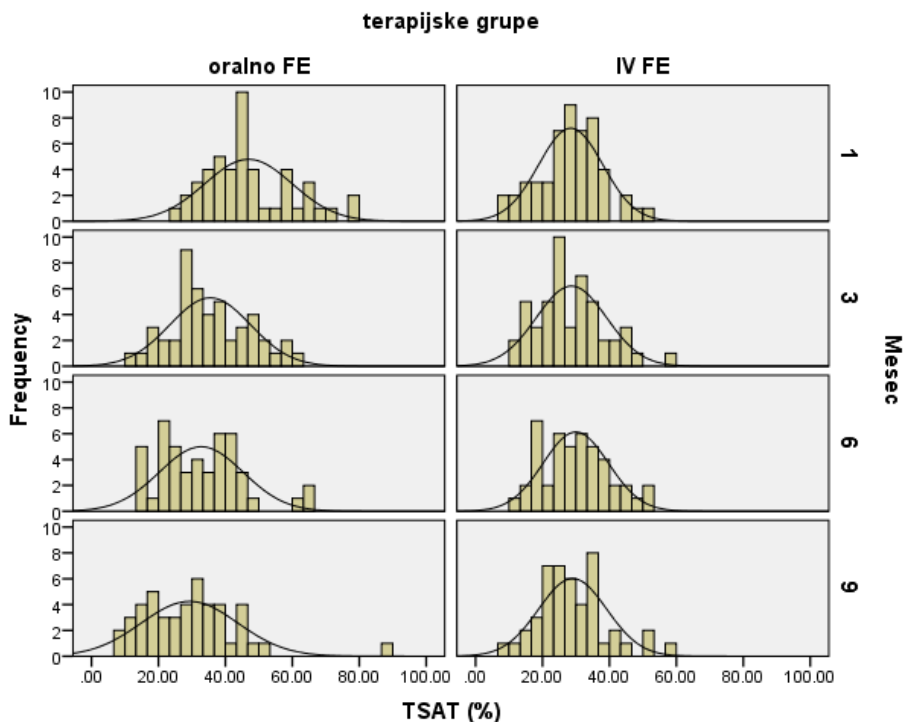
Tabela 20. Statističke mere kretanja prosečnih procenjenih vrednosti nivoa saturacije transferina gvoždem u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		TSAT1m %	TSAT3m %	TSAT6m %	TSAT9m %
Per os	N		47	48	47	46
	Missing		2	1	2	3
	Mean		46.90	35.47	32.78	29.29
	Median		44.62	33.60	31.75	29.20
	SD		13.04	12.05	12.51	14.39
	Minimum		24.17	13.26	14.37	8.07
	Maximum		78.00	62.40	65.07	87.53
	Percentiles	25	37.95	27.17	22.93	17.23
		50	44.62	33.60	31.75	29.20
		75	56.88	45.96	41.44	37.17
IV	N		52	49	45	46
	Missing		0	3	7	6
	Mean		28.43	28.65	29.94	29.01
	Median		28.79	26.59	29.85	28.74
	SD		9.60	10.50	9.76	10.17
	Minimum		6.92	10.57	12.57	8.50
	Maximum		50.65	59.58	50.99	58.56
	Percentiles	25	23.30	21.81	22.41	22.44
		50	28.79	26.59	29.85	28.74
		75	35.26	35.32	36.72	34.08
K-S test			0.089	0.086	0.058	0.081
P			0.051	0.075	0.200	0.173
Značajnost razlike	t-test		7.942	2.972	1.207	0.108
	p		0.000	0.004	0.228	0.914

Statističke mere nivoa saturacije transferina gvoždem (TSAT) u dve grupe bolesnika u sva četiri vremena prikazane su u Tabeli 20.

Primena K-S testa pokazala je da se vrednosti nivoa saturacije transferina gvoždem (TSAT) statistički značajno ne razlikuju od normalne raspodele. Prosečna vrednost

nivoa TSAT u prvoj grupi iznosila je 46.90% sa odstupanjem od 13.04% i statistički je značajno veća ($t\text{-test}=8.075$; $p=0.000$) od vrednosti TSAT, a u drugoj grupi (28.43% i sa odstupanjem od 9.60%). Isti zaključak se donosi i poređenjem dve grupe bolesnika u drugom merenju, dok u trećem i četvrtom merenju razlike između srednjih vrednosti nivoa TSAT nisu bile statistički značajne.

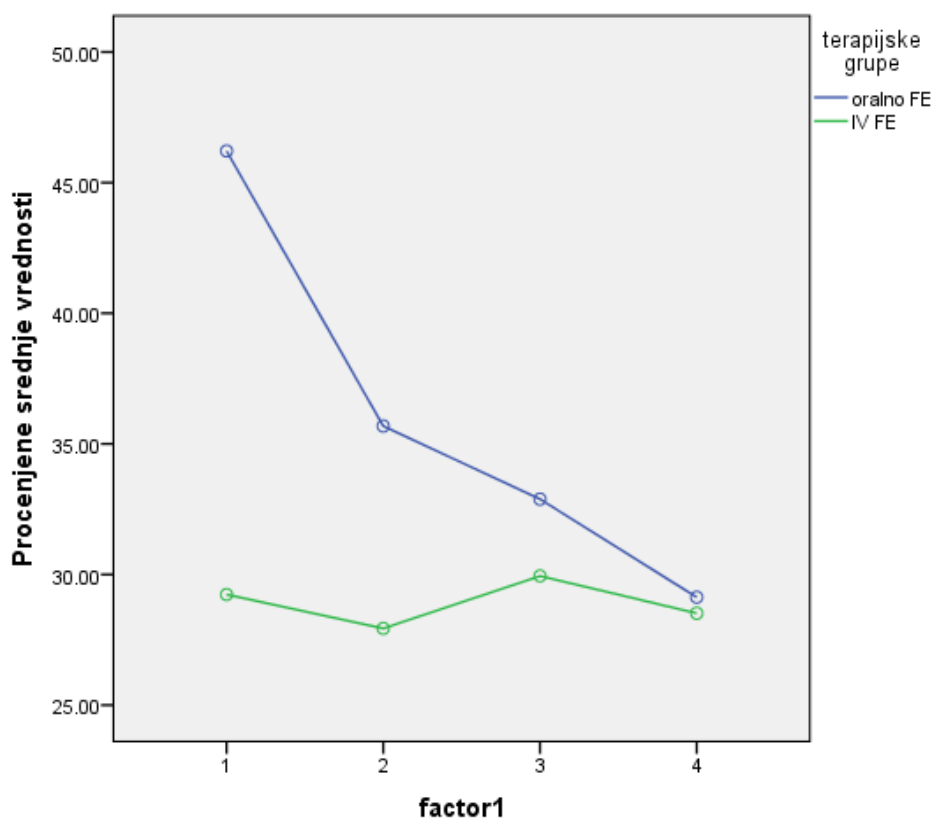


Grafikon 11. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti nivoa saturacije transferina gvoždem (TSAT) između terapijskih grupa Fe kao histogram frekvencija

Rezultati primene analize varijanse za ponovljena merenja prikazani su u Tabeli 21 i na Grafikonu 12. Model promene vrednosti TSAT od prvog do trećeg meseca na nivou obe grupe statistički je značajan ($F=28.173$ i $p=0.000$). U grupi bolesnika koji su primali peroralno gvožđe glukonat (grupa Per os FE) opadanje prosečne vrednosti i veličina promene nivoa TSAT bila je značajno veće nego u drugoj grupi bolesnika na IV Fe glukonatu (grupa IV FE), $F= 17.169$ $p= 0.000$. Analizom je obuhvaćeno 46 bolesnika grupe Per os FE i 45 bolesnika druge grupe IV FE, ukupno 91 bolesnik.

Tabela 21. Značajnost promena između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9 mesec) i terapijskih grupa supstitucije Fe

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	28.173	0.000
	Merenje2 vs. Merenje3	0.073	0.788
	Merenje3 vs. Merenje4	2.724	0.102
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	17.169	0.000
	Merenje2 vs. Merenje3	2.713	0.103
	Merenje3 vs. Merenje4	0.549	0.461



Grafikon 12. Promene procenjenih prosečnih vrednosti nivoa saturacije transferina gvoždem između dve terapijske grupe Fe tokom 9 meseci

Zaključak. TSAT je zadovoljavajućih prosečnih vrednosti tokom 9 meseci u obe terapijske grupe susptitucije Fe, izrazito stabilan na IV Fe tokom 9 meseci terapije, a opadajućih vrednosti na peroralnom Fe tokom prvog trimestra, zatim stabilan.

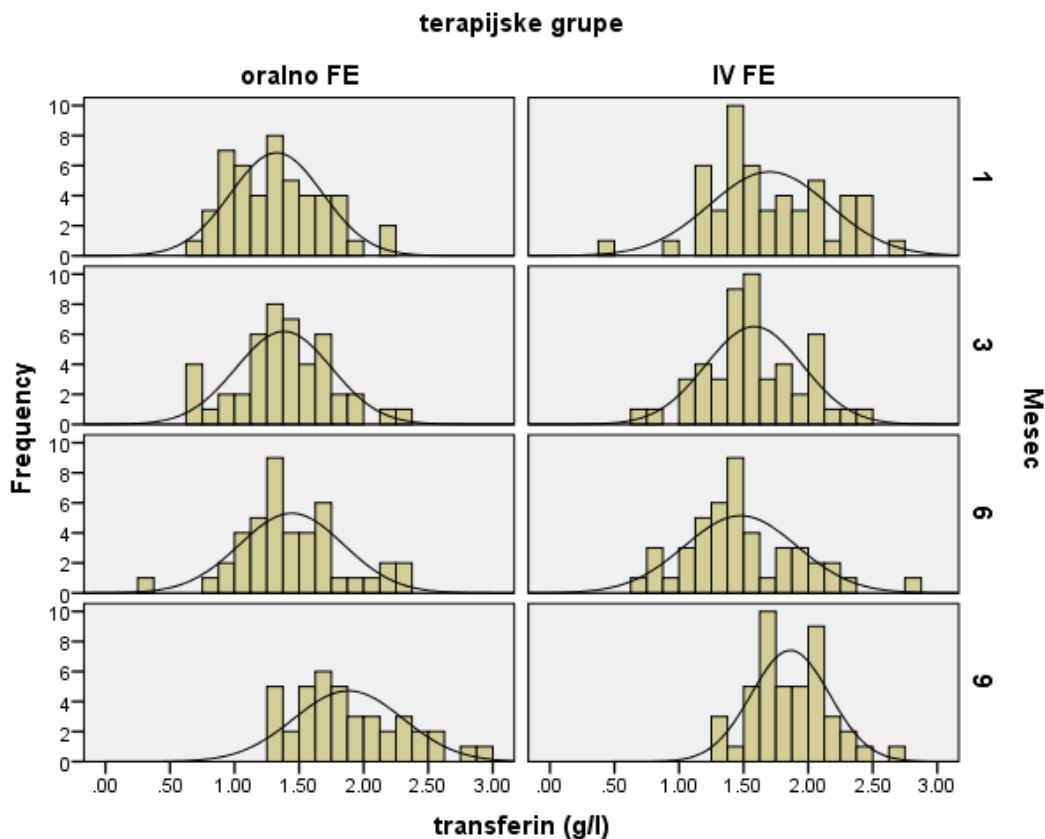
4.1.9. Transferin u serumu (g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere vrednosti transferina u serumu prikazane su u Tabeli 22 i obliku box-plot grafikona (Grafikon 13). Vrednosti transferina u serumu statistički su se značajno razlikovale od normalne raspodele u šestom mesecu (K-Stest3= 0.100 i p= 0.030) i devetom mesecu (K-Stest4=0.107 i p=0.017), u prvom i trećem mesecu raspodela vrednosti transferina u serumu je bila normalna.

Tabela 22. Statističke mere kretanja prosečnih procenjenih vrednosti nivoa transferina u serumu u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		Transferin 1m g/L	Transferin 3m g/L	Transferin 6m g/L	Transferin 9m g/L
Per os	N		49	46	43	40
	Missing		0	3	6	9
	Mean		1.33	1.38	1.44	1.88
	Median		1.32	1.37	1.37	1.78
	SD		0.36	0.37	0.40	0.42
	Minimum		0.66	0.64	0.36	1.25
	Maximum		2.21	2.26	2.36	2.89
	Percentiles	25	1.05	1.17	1.21	1.56
		50	1.32	1.37	1.37	1.78
	75	1.59	1.65	1.69	2.16	
IV	N		52	49	45	45
	Missing		0	3	7	7
	Mean		1.70	1.58	1.48	1.86
	Median		1.59	1.56	1.41	1.80
	SD		0.46	0.38	0.44	0.30
	Minimum		0.48	0.72	0.70	1.30
	Maximum		2.74	2.42	2.80	2.73
	Percentiles	25	1.39	1.34	1.22	1.67
		50	1.59	1.56	1.41	1.80
	75	2.07	1.80	1.77	2.10	
K-S test			0.075	0.055	0.100	0.107
P			0.182	0.200	0.030	0.017
Srednji rank – Oralna terapija			38.48	40.82	43.63	42.58
Srednji rank – IV terapija			62.80	54.74	45.33	43.38
Z			-4.169	-2.461	-0.313	-0.150
Značajnost razlike			0.000	0.014	0.754	0.881
Fridmanov test za četiri merenja			$\chi^2 = 9.587$ p = 0.022			

U prvom mesecu medijana transferina u serumu u grupi Per os FE iznosila je 1.32 g/L, 25-percentil 1.05 g/L a 75-percentil 1.59 g/L. U drugoj terapijskoj grupi bolesnika (grupa IV FE) medijana je iznosila 1.59 g/L, 25-percentil 1.39 g/L, a 75-percentil 2.07 g/L.



Grafikon 13. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti nivoa transferina u serumu između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Za poredenje vrednosti transferina u serumu između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test.

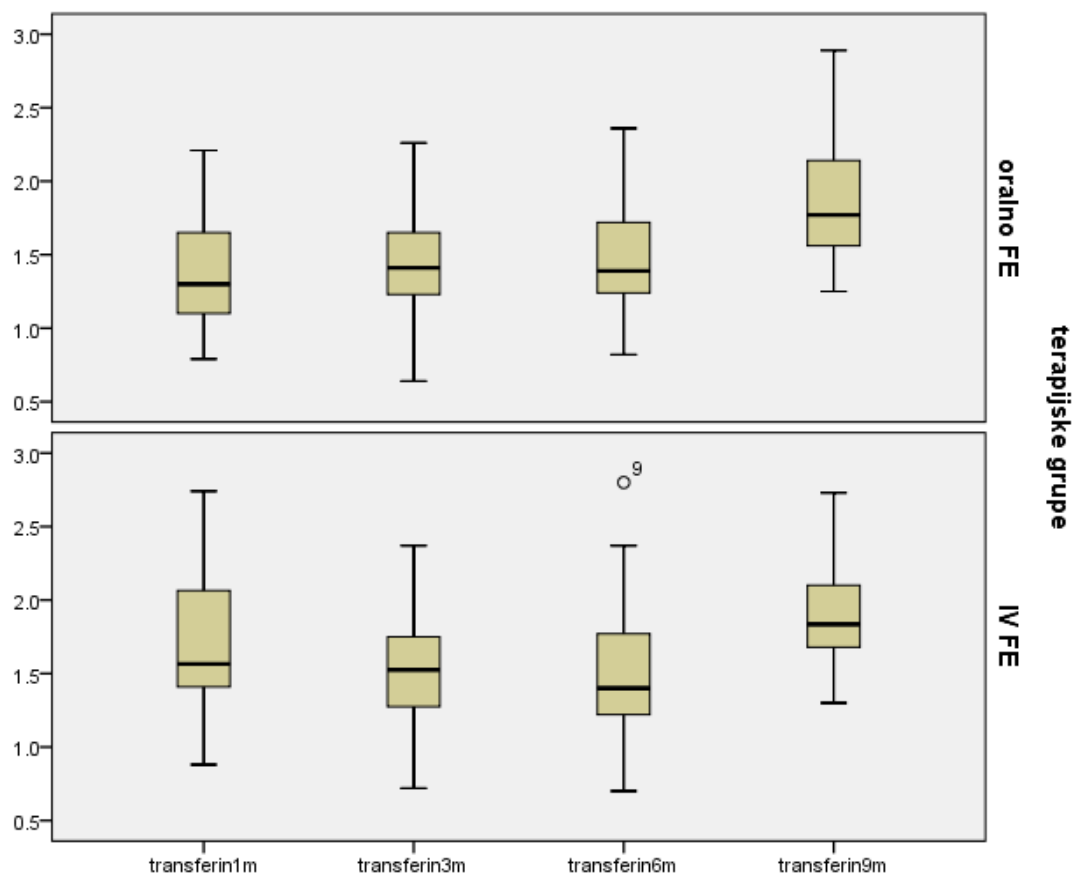
Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti transferina u serumu ista u obe terapijske grupe, nultu hipotezu u slučaju prvog ($Z=-4.169$, $p=0.000$) i drugog merenja ($Z=-2.461$, $p=0.014$) smo odbacili. U slučaju ostala dva merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno raspodele vrednosti transferina u serumu nisu bile statistički međusobno različite.

U grupi na peroralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE) 38 bolesnika i 44 bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE) imali su vrednosti serumskog transferina za sva četiri merenja, ukupno 82 bolesnika.

Korišćenjem Fidmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti serumskog transferina u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili da ta raspodela nije bila identična (Fridmanov test $\chi^2 = 85.989$, $p = 0.000$). Na nivou svih 85 bolesnika između prvog i trećeg meseca nije bilo statistički značajne promene u distribuciji vrednosti transferina ($Z=-1.368$, $p=0.171$), slično kao između trećeg i šestog meseca ($Z=-2.54$ $p=0.799$). Statistički značajan porast vrednosti transferina nastao je između šestog i devetog meseca ($Z=-6.879$ i $p = 0.000$).

Distribucija vrednosti serumskog transferina u grupi bolesnika na per os terapiji Fe nije pretrpela statistički značajne promene između prvog i trećeg meseca ($Z=-1.003$, $p=0.316$) i između trećeg i šestog meseca ($Z=-1.444$, $p=0.149$). Između šestog i devetog meseca nastalo je statistički značajno povećanje vrednosti serumskog transferina ($Z=-4.612$, $p=0.00$), Grafikon 14.

Distribucija vrednosti serumskog transferina u grupi bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE) između prvog i trećeg meseca došlo je do statistički značajnog smanjenja vrednosti ($Z=-2.550$; $p=0.01$), promena nastala od trećeg do šestog meseca nije bila statistički značajna ($Z=-1.459$, $p=0.145$), a od šestog do devetog meseca vrednosti transferina su statistički u značajanom porastu ($Z=-5.124$ $p = 0.000$), Grafikon 14.



Grafikon 14. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika serumskog transferina između terapijskih grupa Fe

Zaključak. Početne vrednosti transferina u serumu su bile niže u grupi na peroralnom Fe, razlika iščezava između trećeg i šestog meseca terapije i transferin u serumu značajno raste u trećem trimestru, u obe terapijske opcije supstitucije Fe.

4.1.10. Feritin u serumu (ng/mL) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

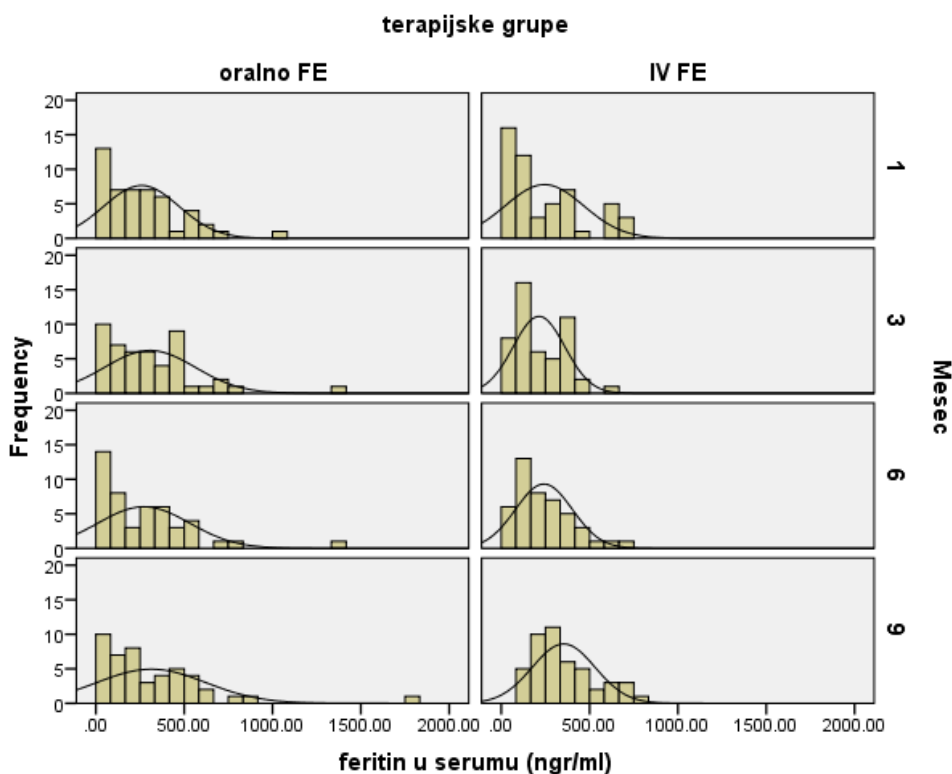
Statističke mere vrednosti feritina u serumu prikazane su u Tabeli 23 i u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 15). U sva četiri merenja, vrednosti feritina u serumu su se značajno razlikovale od normalne raspodele.

Tabela 23. Statističke mere kretanja procenjenih prosečnih vrednosti feritina u serumu u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe)

Tip terapije Fe	Statističke mere		Feritin 1m ng/mL	Feritin 3m ng/mL	Feritin 6m ng/mL	Feritin 9m ng/mL
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		311.50	305.73	270.91	313.24
	Median		289.57	281.25	223.70	226.75
	SD		241.67	257.35	259.59	309.60
	Minimum		21.60	17.00	13.90	13.10
	Maximum		1021.00	1401.10	1370.20	1775.00
	Percentiles	25	102.22	110.51	70.10	98.88
		50	289.57	281.25	223.70	226.75
	75	520.00	434.03	387.70	443.08	
IV	N		52	49	45	46
	Missing		0	3	7	6
	Mean		193.27	213.45	241.18	352.98
	Median		116.55	171.40	224.10	304.10
	SD		174.02	146.09	160.60	177.86
	Minimum		18.40	17.10	35.50	114.00
	Maximum		739.36	622.30	699.80	756.30
	Percentiles	25	43.21	98.05	100.30	218.23
		50	116.55	171.40	224.10	304.10
	75	328.82	337.80	335.95	480.23	
K-S test		0.146	0.128	0.131	0.114	
P		0.000	0.001	0.001	0.005	
Srednji rank – Oralna terapija		58.88	53.83	45.88	41.33	
Srednji rank – IV terapija		43.58	44.27	47.14	51.67	
Z		-2.623	-1.674	-0.227	-1.859	
Značajnost razlike		0.009	0.094	0.621	0.063	
Fridmanov test za četiri merenja	$\chi^2 = 26.064$ p = 0.000					

Početna medijana feritina u serumu u grupi bolesnika na oralnom Fe (grupa Per os FE) u prvom merenju iznosila je 289.57 ng/mL, 25 percentil je bio 102.22 ng/mL a 75

percentil 520.00ng/mL. U drugoj grupi bolesnika na IV Fe (grupa IV FE) medijana feritina u serumu je bila znatno manja 116.55 ng/mL, 25 percentil je iznosio 43.21 ng/mL a 75 percentil 328.82 ng/mL.



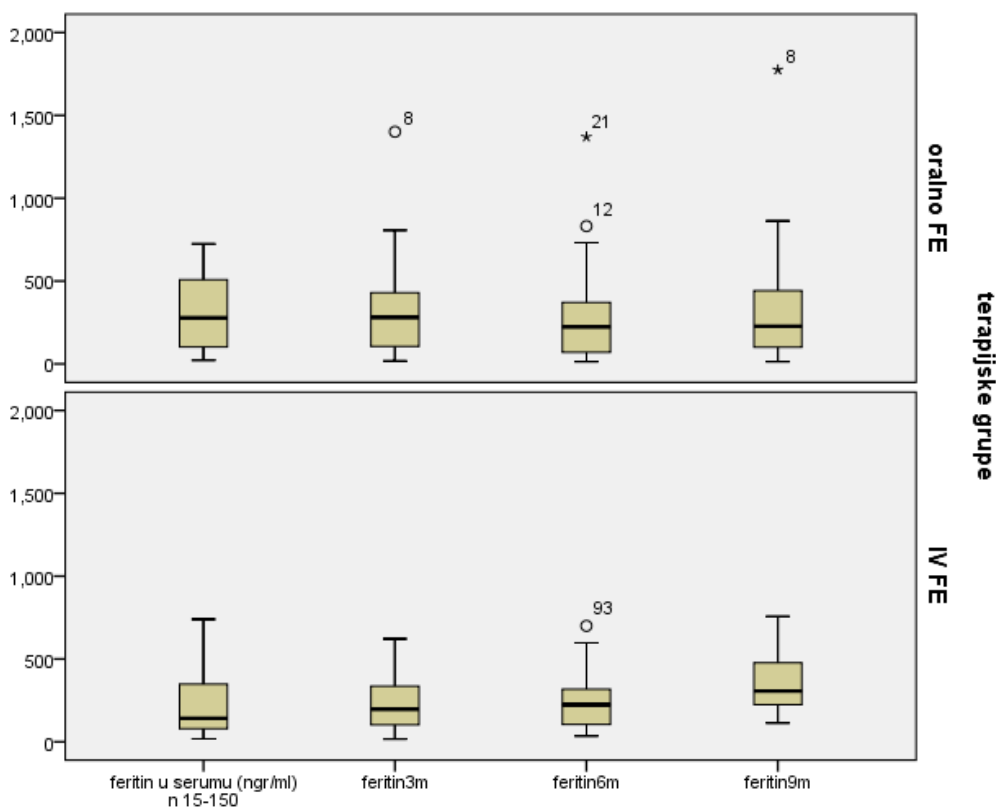
Grafikon 15. Prikaz distribucije frekvencija nivoa feritina u serumu između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Za poređenje vrednosti feritina u serumu kod bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti feritina u serumu bila ista u obe terapijske grupe. Nultu hipotezu u slučaju prvog merenja ($Z=-2.623$ $p=0.009$) smo odbacili. U slučaju ostala tri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti feritina u serumu nisu bili statistički međusobno različite.

U grupi na peroranoj terapiji gvoždem (grupa Per os FE) 46 bolesnika i 46 bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE) imali su izmerene vrednosti serumskog feritina za sva četiri merenja, ukupno 92 bolesnika. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata

odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili da ta raspodela nije bila identična (Fridmanov test $\chi^2 = 26.064$, $p=0.000$). Distribucija vrednosti feritina u serumu između prvog i drugog merenja nije pretrpela statistički značajnu promenu ($Z=-0.167$, $p=0.867$). Takođe, nije bilo statistički značajne promene ni između drugog i trećeg merenja ($Z=-0.419$, $p=0.676$). Statistički značajna promena u distribuciji vrednosti feritina dogodila se između trećeg i četvrog merenja ($Z=-5.879$, $p=0.000$).

Vrednosti serumskog feritina u grupi na terapiji peroralnim gvožđem (grupa Per os FE) prati slična distribucija, kao i ona na nivou obe grupe zajedno, između prvog i drugom merenja nema statistički značajne promene ($Z=-0.390$, $p=0.697$), kao ni između drugog i trećeg merenja ($Z=-1.862$, $p=0.063$). Povećanje vrednosti feritina nastalo je između trećeg i četvrtog merenja ($Z=-2.376$, $p=0.017$).



Grafikon 16. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika za nivo feritina u serumu između terapijskih grupa Fe

Distribucija vrednosti serumskog feritina u grupi bolesnika koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE) slična je kao i u prvoj grupi. Nema statistički

značajne promene između prvog i drugog merenja ($Z=-0.691$, $p=0.498$), niti između drugog i trećeg merenja ($Z=-1.405$, $p=0.160$). Međutim, promena distribucije između trećeg i četvrtog merenja statistički je značajna ($Z=-5.531$, $p=0.000$), Grafikon 16.

Zaključak. Početni feritin u serumu, posmatrano u svih 101 bolesnika (koji su procenjivani za uključenje u studiju) bio je niži kod bolesnika koji su uključeni na IV Fe nego kod bolesnika kod kojih je primenjeno peroralno Fe, a u ostalim merenjima tokom studije nije bilo razlike u odnosu na terapijsku opciju supstitucije Fe.

Početni feritin je bio sličan kod 92 analizirana bolesnika randomizirana u dve terapijske opcije supstitucije Fe tokom 9 meseci ($p = 0.078$). Zaključili smo da nije bilo razlike u nivoima serumskog feritina između dve opcije u načinu supstitucije Fe tokom 9 meseci – peroralno prema IV Fe, odnosno, da su obe terapije bile podjednako efikasne u primeni eritropoetina beta, u lečenje HD anemije.

Značajan porast feritina u serumu uočen je u poslednjem trimestru za sve bolesnike, ali je taj porast bio značajno veći u grupi na IV Fe nego na terapiji peroralnim Fe, što može da ukaže da nije primećeno preveliko nakupljanje rezervnog Fe kod terapije peroralnim Fe.

4.1.11. Procenat hipohromnih eritrocita (HRC%) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere procenta hipohromnih eritrocita (HRC) prikazane su u Tabeli 24 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 17). Vrednosti ovog parametra statistički su se značajno razlikovale od normalne raspodele, u sva četiri merenja.

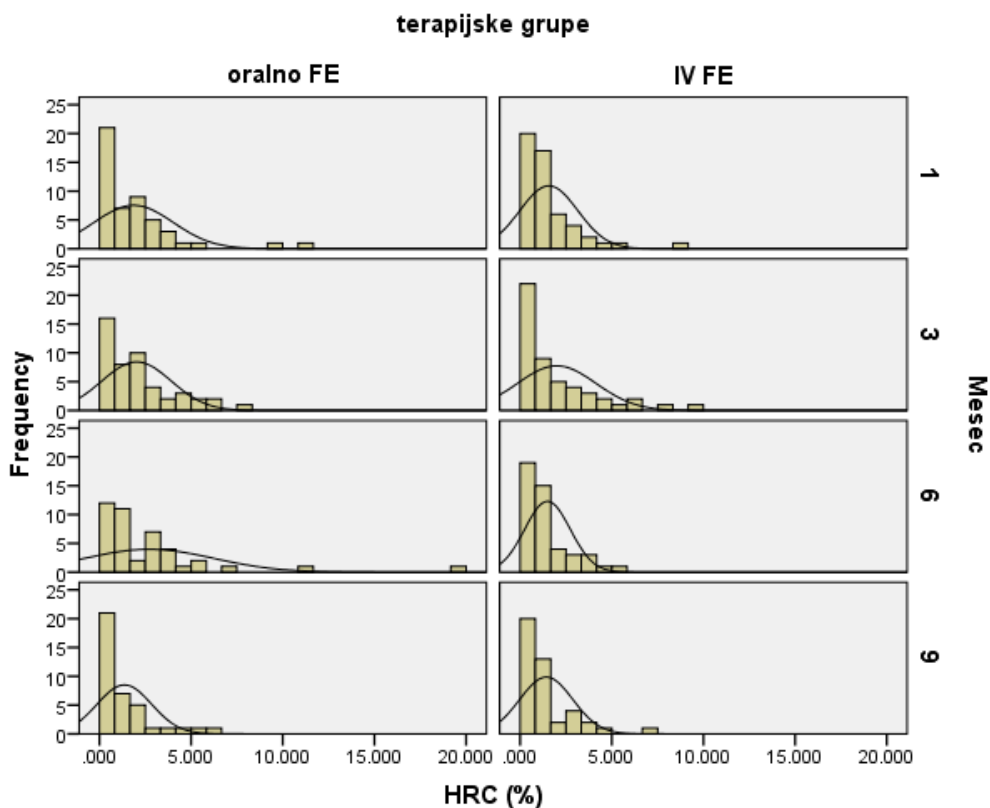
Tabela 24. Statističke mere kretanja procenjenih prosečnih vrednosti procenta hipohromnih eritrocita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		HRC1m %	HRC3m %	HRC6m %	HRC9m %
Per os	N		49	48	42	38
	Missing		0	1	7	11
	Mean		1.86	2.02	2.70	1.36
	Median		1.35	1.57	1.29	0.79
	SD		2.16	1.89	3.52	1.48
	Minimum		0.13	0.02	0.21	0.02
	Maximum		11.10	7.75	19.80	6.58
	Percentiles	25	0.54	0.57	0.78	0.54
		50	1.35	1.57	1.29	0.79
	75	2.47	2.82	3.38	1.69	
IV	N		52	50	46	43
	Missing		0	2	6	9
	Mean		1.56	1.99	1.49	1.42
	Median		1.06	1.02	1.09	0.98
	SD		1.58	2.15	1.24	1.45
	Minimum		0.11	0.02	0.13	0.02
	Maximum		9.00	9.77	5.27	7.26
	Percentiles	25	0.61	0.58	0.60	0.57
		50	1.06	1.02	1.09	0.98
	75	1.97	2.90	1.81	1.49	
K-S test			0.198	0.167	0.232	0.230
P			0.000	0.000	0.000	0.000
Srednji rank – Oralna terapija			52.04	50.50	49.25	39.70
Srednji rank – IV terapija			50.02	48.46	40.16	42.15
Z			-0.347	-0.370	-1.667	-0.468
Značajnost razlike			0.729	0.712	0.096	0.839
Fridmanov test za četiri merenja			$\chi^2 = 3.670$ p = 0.299			

Medijana procenta hipohromnih eritrocita (HRC) u grupu na per os Fe na prvom merenju iznosila je 1.35%, 25 percentil 0.54% a 75 percentil 2.47%. U dugoj grupi na IV Fe u okviru prvog merenja medijana je nešto niža i iznosi 1.06%, 25 percentil 0.61%, a 75 percentil 1.97%.

Za poređenje vrednosti procenta hipohromnih eritrocita (HRC) bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test.

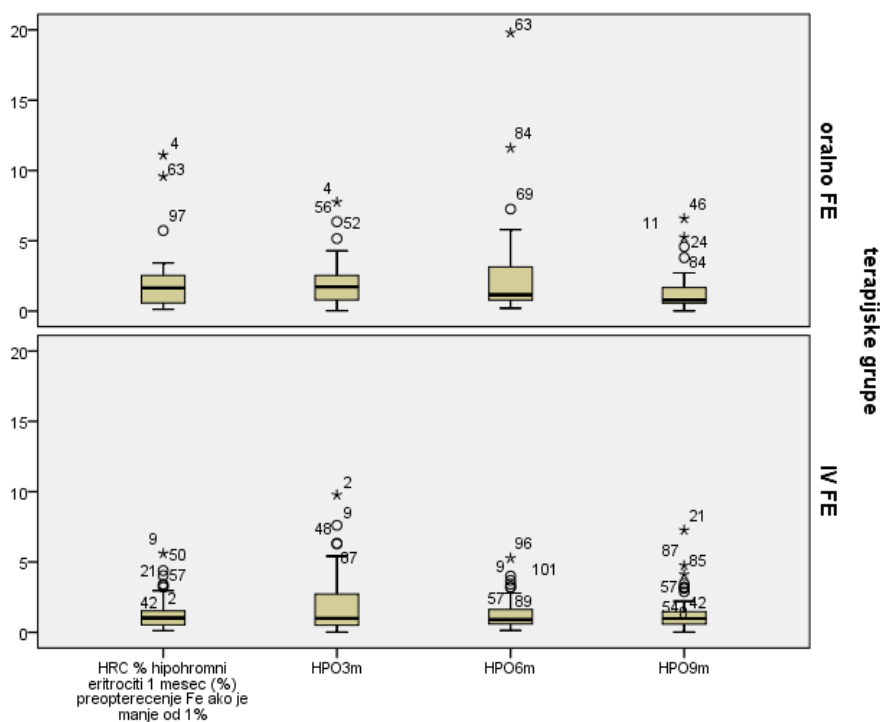
Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti procenta hipohromnih eritrocita (HRC) ista u obe terapijske grupe. U sva četiri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti procenta hipohromnih eritrocita (HRC) nisu bili statistički međusobno različite.



Grafikon 17. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti procenta hipohromnih eritrocita između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Uvidom u Tabelu 24 zaključujemo da su u grupi na peroralnoj terapiji Fe (grupa Per os FE) 38 bolesnika i 43 bolesnika, koji su dobijali intravensko gvožđe (grupa IV FE), imali su vrednosti za sva četiri merenja, ukupno 81 bolesnik.

Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima, testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata nismo imali razloga za odbacivanjem nulte hipoteze, odnosno, zaključili smo da je raspodela bila identična (Fridmanov test $\chi^2 = 3.670$, $p = 0.299$).



Grafikon 18. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika procenta hipohromnih eritrocita između terapijskih grupa Fe

Zaključak. Procenat hipohromnih eritrocita bio je nešto veći u grupi na peroralnom Fe prema grupi IV Fe (odnos medijana blizu 1.3), ali ta razlika nije bila značajna. Hipohromni eritrociti su blago opadali na peroralnoj terapiji Fe u 6om i u 9om mesecu i dostižu medijanu 0.79%, dok su više stabilni na terapiji IV Fe, sa ishodnom medijanom 0.98% u trećem trimestru, što ukazuje na adekvatnu supstituciju Fe ili na preopterećenje Fe prema aktuelnoj potrebi za datu doze rHu Epo beta, odnosno, prema jačini stimulacije eritroidne loze.

4.1.12. Procenat retikulocita (%Rtc) od ukupnog broja eritrocita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

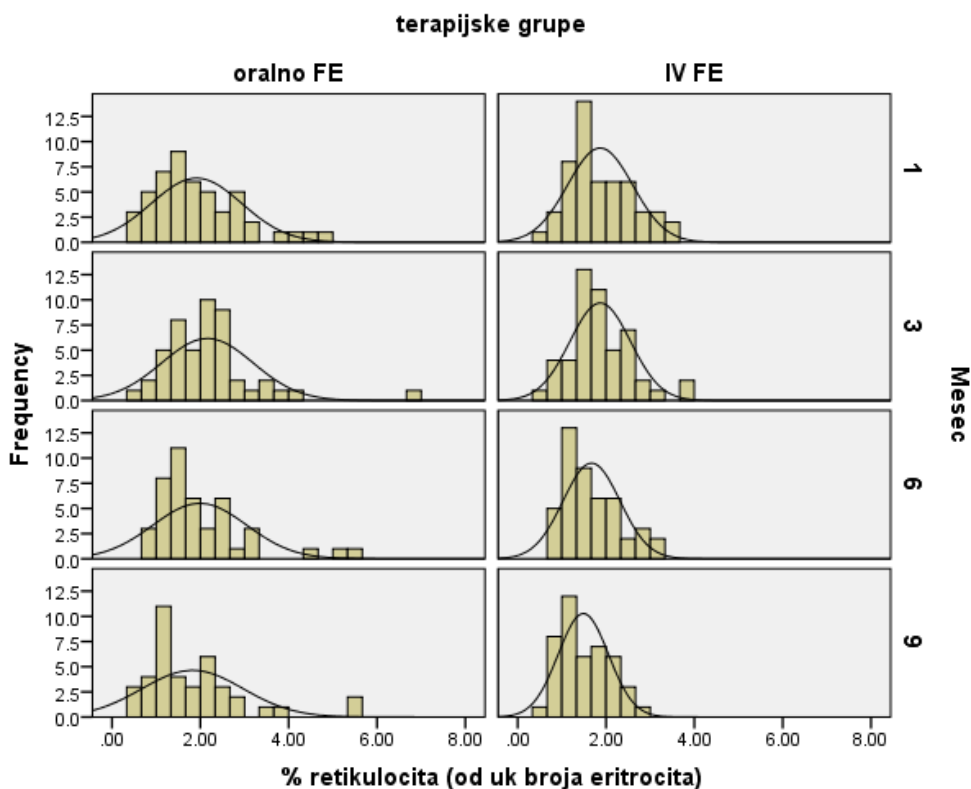
Statističke mere procenta retikulocita (%Rtc) prikazane su u Tabeli 25 za obe terapijske grupe bolesnika, za sva merenja posebno, a grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 19). Vrednosti procenta retikulocita (%Rtc) statistički su se značajno razlikovale od normalne raspodele u sva četiri merenja, u prvom, trećem, 6om i 9om mesecu.

Tabela 25. Statističke mere kretanja procenjenih prosečnih vrednosti procenta retikulocita u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere		Rtc1m %	Rtc3m %	Rtc6m %	Rtc9m %
Per os	N		49	48	44	40
	Missing		0	1	5	9
	Mean		1.91	2.16	1.99	1.82
	Median		1.68	2.14	1.70	1.38
	SD		1.02	1.04	1.06	1.15
	Minimum		0.36	0.58	0.81	0.54
	Maximum		4.91	6.88	5.54	5.50
	Percentiles	25	1.09	1.54	1.29	1.09
		50	1.68	2.14	1.70	1.38
	75	2.41	2.42	2.43	2.23	
IV	N		52	50	46	44
	Missing		0	2	6	8
	Mean		1.87	1.87	1.67	1.49
	Median		1.70	1.71	1.48	1.40
	SD		0.74	0.69	0.64	0.57
	Minimum		0.49	0.47	0.71	0.65
	Maximum		3.66	3.81	3.16	2.70
	Percentiles	25	1.39	1.43	1.14	1.00
		50	1.70	1.71	1.48	1.40
	75	2.38	2.26	2.02	1.79	
K-S test		0.115	0.118	0.127	0.129	
P		0.002	0.002	0.001	0.002	
Srednji rank – Oralna terapija		50.18	53.35	48.89	45.18	
Srednji rank – IV terapija		51.77	45.80	42.26	40.07	
Z		-0.272	-1.315	-1.203	-0.958	
Značajnost razlike		0.786	0.189	0.229	0.338	
Fridmanov test za četiri merenja	$\chi^2 = 24.498$ p = 0.000					

U prvom merenju, medijana za grupu bolesnika koji su bili na intravenskoj supstituciji gvoždem (grupa IV FE) iznosila je 1.70%, 25 percentil 1.39%, a 75 percentil 2.38%. Vrednost medijane u drugoj grupi na peroralnom Fe (grupa Per os FE) bila je nešto niža 1.68%, 25 percentil 1.09%, a 75 percentil je iznosio 2.41%.

Za poređenje vrednosti procenta retikulocita (%Rtc) bolesnika između dve terapijske grupe. u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti procenta retikulocita (%Rtc) ista, u obe terapijske grupe. U sva četiri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti procenta retikulocita (%Rtc) nisu bili statistički međusobno različite.



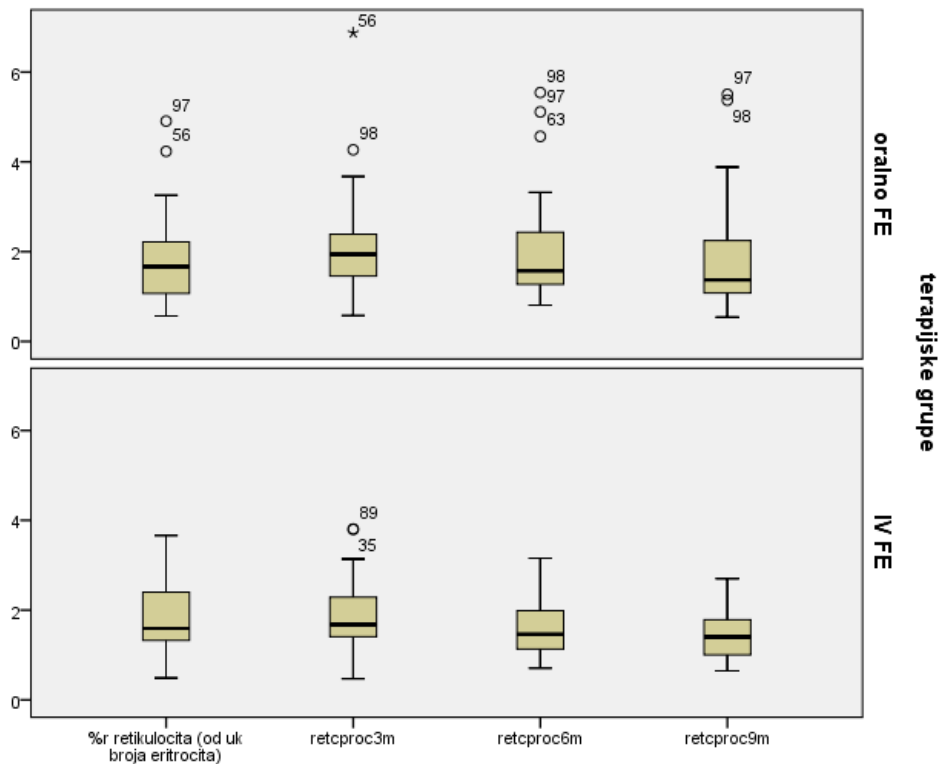
Grafikon 19. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti procenta retikulocita između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Uvidom u tabelu zaključujemo da su 38 bolesnika u grupi na Per os terapiji Fe i 43 bolesnika u grupi IV FE, koji su bili na IV supstituciji gvoždem, imali vrednosti za sva četiri merenja. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima

testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili da raspodela nije bila identična u odnosu na pojedina merenja (Fridmanov test $\chi^2 = 24.498$ $p = 0.0009$). Promene u distribuciji vrednosti na nivou svih bolesnika (njih 82 je imalo rezultata sva četiri merenja) nisu bile statistički značajne razlike između prvog i drugog merenja ($Z = -1.754$, $p = 0.079$), između drugog i trećeg merenja došlo je do statistički značajnog smanjenja vrednosti % retikulocita ($Z = -2.207$ i $p = 0.027$), zatim se smanjenje nastavljalo do četvrtog merenja ($Z = -3.932$ i $p = 0.000$).

U grupi bolesnika na terapiji FE (grupa Per os FE) u kojoj je 38 bolesnika imalo sva četiri merenja, između prvog i drugog merenja došlo je do statistički značajnog povećanja vrednosti procenta retikulocita (%Rtc), ($Z = -2.168$ i $p = 0.300$). Između drugog i trećeg merenja nije bilo statistički značajne promene, a između trećeg i četvrtog merenja došlo je do statistički značajnog pada vrednosti ($Z = -2.400$ i $p = 0.160$), Grafikon 20.

Promene u drugoj grupi bolesnika, na IV Fe koja je obuhvatila 44 bolesnika za sva četiri merenja) vrednosti su bile slične. Između prvog i drugog merenja nije bilo statistički značajne promene u distribuciji frekvencija ($Z = -0.222$ i $p = 0.825$), od drugog do trećeg merenja nastao je statistički značajan pad vrednosti procenta retikulocita (%Rtc), $Z = -0.147$ i $p = 0.032$) i pad se nastavio i od trećeg i četvrtog merenja ($Z = -2.976$, $p = 0.003$), Grafikon 20.



Grafikon 20. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika vrednosti procenta retikulocita između terapijskih grupa Fe

Zaključak. Medijana % retikulocita u prvom mesecu je u obe grupe supstitucije Fe bila 1.5%, aproksimativno, i ukazuje na sličnu prethodeću – inicijalnu stimulaciju eritropoeze u obe grupe. Porast % retikulocita je značajan za prva 3 meseca na peroralnom Fe, a nepromenjen na IV Fe. Smanjenje % retikulocita uočava se u obe grupe u 6om i 9om mesecu terapije.

Napomena. Broj retikulocita se koristi u proceni stepena efektivne eritropoeze u kostnoj srži, a može se prezentovati kao apsolutni broj retikulocita, odnosno, procenat retikulocita od ukupnog broja eritrocita (248). Referentne vrednosti procenta retikulocita su 0,5%-1,5% (117). Povećan broj retikulocita odlikava aktuelnu ili skorašnju produkciju eritrocita, koja može da bude posledica skorašnjeg krvarenja, hemolize ili kao odgovor na terapiju (suplementaciju gvožđa, suplementaciju vitamina B12, folne kliseline, terapije rHu Epo, oporavak kostne srži posle hemioterapije ili transplantacije). Smanjen broj retikulocita (procenta retikulocita) može da nastane u deficijenciji gvožđa, vitamina B12, folne kiseline ili je posledica nedostatka endogenog eritropoetina (u okviru CKD), aplasticne anemije, iradijacione terapije i dr (118).

4.1.13. Koncentracija hemoglobina u retikulocitima CHCr (g/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

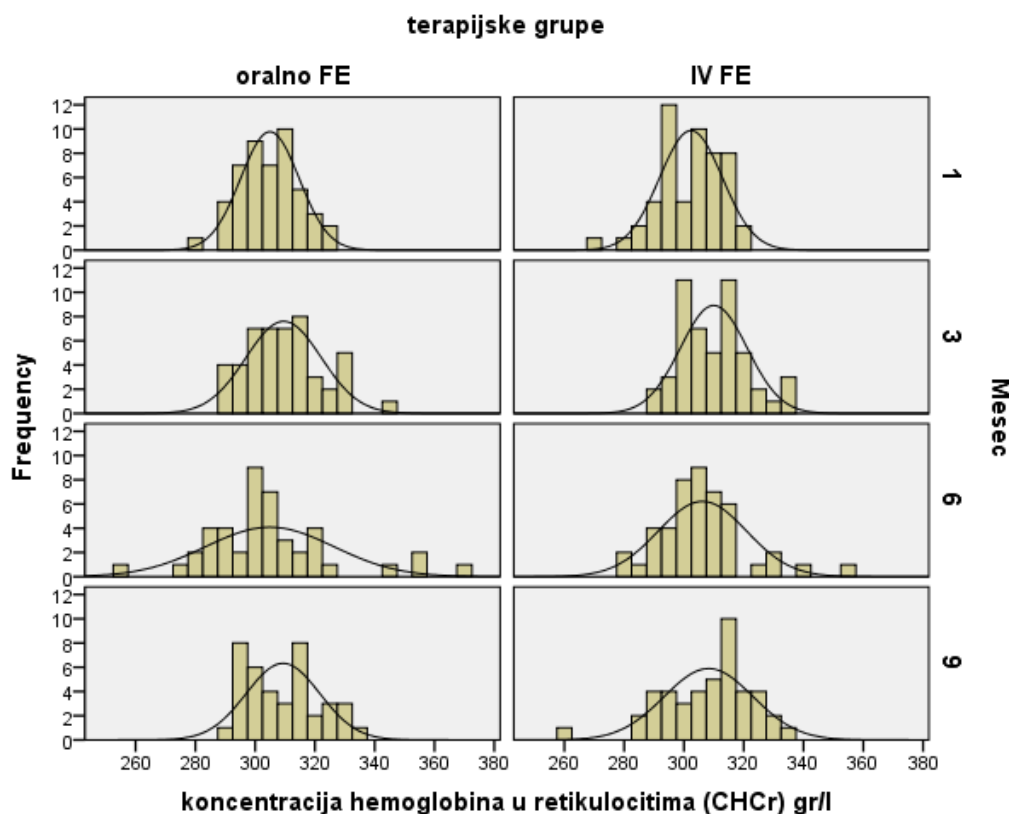
U Tabeli 26 prikazane su statističke mere koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) za sva 4 merenja posebno, a grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 21). Vrednosti koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) statistički se značajno ne razlikuju od normalne raspodele samo u prvom merenju.

Tabela 26. Statističke mere kretanja procenjenih prosečnih vrednosti koncentracija hemoglobina u retikulocitima u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

Tip terapije Fe	Statističke mere	CHCr1m g/L	CHCr3m g/L	CHCr6m g/L	CHCr9m g/L	
Per os	N	48	48	44	39	
	Missing	1	1	5	10	
	Mean	304.92	309.52	304.89	309.31	
	Median	304.00	308.00	302.00	310.00	
	SD	9.80	12.59	21.49	12.30	
	Minimum	282.00	288.00	255.00	291.00	
	Maximum	326.00	343.00	370.00	333.00	
	Percentiles	25	297.25	300.25	291.25	298.00
		50	304.00	308.00	302.00	310.00
	75	311.00	316.75	313.00	317.00	
IV	N	52	50	46	44	
	Missing	0	2	6	8	
	Mean	302.35	309.96	306.17	308.25	
	Median	303.50	310.00	304.00	311.00	
	SD	10.51	11.19	14.76	14.89	
	Minimum	270.00	289.00	280.00	258.00	
	Maximum	322.00	336.00	356.00	333.00	
	Percentiles	25	296.00	301.00	298.50	297.25
		50	303.50	310.00	304.00	311.00
	75	310.00	317.00	312.25	318.50	
K-S test Statističke mere		0.085	0.115	0.137	0.080	
P		0.069	0.003	0.000	0.200	
Srednji rank – Oralna terapija		53.52	48.46	43.31	42.15	
Srednji rank – IV terapija		47.71	50.50	47.60	41.86	
Z		-1.002	-0.356	-0.780	-0.055	
Značajnost razlike		0.317	0.722	0.436	0.956	
Fridmanov test za četiri merenja		$\chi^2 = 14.875$ p = 0.002				

Vrednost medijane koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) za grupu Per os FE iznosila je 304.00 g/L, 25-percentil 297.25 g/L a 75-percentil 311.00 g/L. U drugoj grupi (grupa IV FE) medijana CHCr bila je neznatno manja i iznosila je 303.50 g/L, 25-percentil 296.00 g/L i 75-percentil 310.00 g/L.

Za poređenje vrednosti koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) ista u obe terapijske grupe. U sva četiri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) nisu bili statistički međusobno različite.



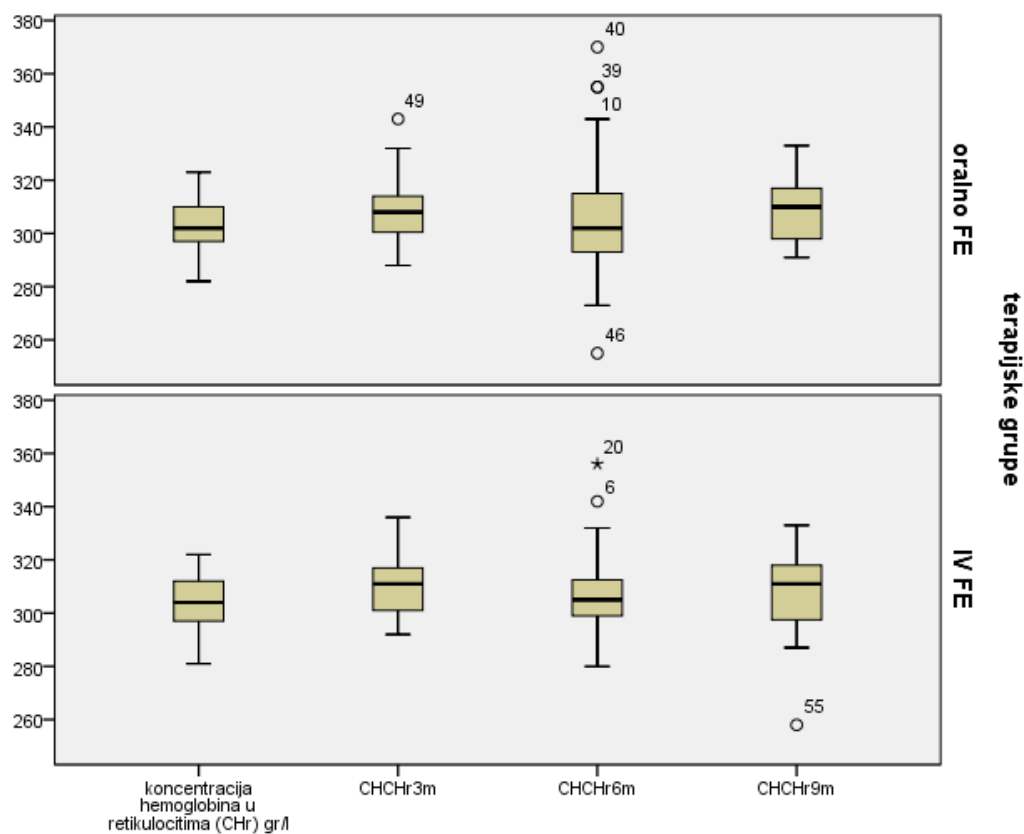
Grafikon 21. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti parametara koncentracije hemoglobina u retikulocitima između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Uvidom u Tabelu 26 zaključujemo da je 39 bolesnika u grupi bolesnika koji su dobijali peroralni preparat gvožđa (grupa per os FE) i 44 bolesnika u grupi koja je

dobijala parenteralno isti preparat gvožđa (grupa IV FE), imalo vrednosti CHCr za sva četiri merenja. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima, testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili da raspodela nije bila identična u odnosu na pojedina merenja (Fridmanov test $\chi^2 = 14.875$, $p = 0.002$). Analizom, 83 bolesnika koji su imali sva četiri merenja, uočeno je značajno povećanje vrednosti između prvog i drugog merenja statistički koncentracije hemoglobina u retikulocitima ($Z = -4.460$, $p = 0.000$), između drugog i trećeg merenja nastalo je smanjenje vrednosti CHCr ($Z = -2.089$, $p = 0.037$), a od trećeg do četvrtog merenja nije bilo statistički značajne promene. Međutim, između prvog i četvrtog merenja došlo je do statistički značajnog povećanja vrednosti CHCr ($Z = -2.846$, $p = 0.004$).

U grupi 39 bolesnika koji su dobijali peroralni preparat gvožđa (grupa Per os FE), između prvog i drugog merenja došlo je do statistički značajnog povećanje vrednosti CHCr ($Z = -2.459$, $p = 0.014$), promene nastale između drugog i trećeg merenja nisu bile statistički značajne ($Z = -1.131$, $p = 0.258$), kao ni promene između trećeg i četvrtog merenja ($Z = -0.901$, $p = 0.368$). Između prvog i četvrtog merenja došlo je do statistički značajnog povećanja vrednosti CHCr ($Z = -2.080$, $p = 0.038$).

Promene u drugoj grupi bolesnika, koji su dobijali parenteralni preparat gvožđa (grupa IV FE), između prvog i drugog merenja bile su statistički značajne ($Z = -3.742$, $p = 0.000$), zatim je nastalo značajno smanjenje vrednosti između drugog i trećeg merenja ($Z = -1.995$, $p = 0.046$), a promene između trećeg i četvrtog merenja nisu bile statistički značajne ($Z = -1.776$, $p = 0.076$), Grafikon 22.



Grafikon 22. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika za parametar CHCr između terapijskih grupa Fe

Zaključak. Tokom prva 3 meseca značajan porast koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHCr) uočava se u obe terapijske grupe supstitucije Fe, ali u grupi na IV Fe taj porast je značajno veći, tako da je razlika značajna između prvog i devetog meseca.

4.1.14. Količina hemoglobina u retikulocitima (CHr, pg/ćeliji) u dve terapijske grupe supstitucije gvořđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke karakteristike ovog parametra date su u Tabeli 27 i grafički su prikazane u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 23), a vrednosti ovog parametra, u svim merenjima, statistički značajno se razlikuju od normalne raspodele.

Medijana parametra CHr na prvom merenju u grupi bolesnika na peroralnoj terapiji Fe iznosila je 31.00 pg/ćel, 25-percentil 29.950 pg/ćel dok 75-percentil 31.650 pg/ćel, a u grupi bolesnika na intravenskoj terapiji Fe medijana CHr iznosila je 30.650 pg/ćel, 25-percentil 29.350 pg/ćel a 75-percentil 31.750 pg/ćel.

Tabela 27. Statističke mere količine hemoglobina u retikulocitima (CHr) po terapijskim grupama, i u toku merenja

Tip terapije Fe	Statističke mere		CHr1m pg/ćel	CHr3m pg/ćel	CHr6m pg/ćel	CHr9m pg/ćel
Per os	N		49	48	44	38
	Missing		0	1	5	11
	Mean		30.927	31.858	29.723	31.111
	Median		31.000	32.100	29.700	30.950
	SD		1.137	2.016	2.550	2.052
	Minimum		28.900	27.100	23.100	27.100
	Maximum		33.300	37.200	37.000	37.400
	Percentiles	25	29.950	30.425	28.475	29.750
		50	31.000	32.100	29.700	30.950
		75	31.650	32.775	31.000	32.300
IV	N		52	50	46	43
	Missing		0	2	6	9
	Mean		30.454	31.458	30.004	30.870
	Median		30.650	31.700	30.000	31.300
	SD		1.733	2.522	2.247	2.300
	Minimum		25.200	22.000	22.600	21.400
	Maximum		33.000	39.000	39.000	37.400
	Percentiles	25	29.350	30.375	28.875	29.600
		50	30.650	31.700	30.000	31.300
		75	31.750	32.625	30.925	32.000
K-S test			0.091	0.109	0.133	0.130
P			0.037	0.006	0.000	0.002

Tabela 28. Rezultati ispitivanja značajnosti razlike između terapijskih grupa u toku istraživanja

Značajnost razlike između grupa u toku pojedinih merenja					
Tip terapije Fe		CHr1m	CHr3m	CHr6m	CHr9m
Per Os Srednji rank		54.200	51.460	43.260	40.470
IV Srednji rank		47.980	47.620	47.640	41.470
Z		-1.067	-0.668	-0.796	-0.189
Značajnost razlike		0.286	0.504	0.426	0.850
Fridmanov test za četiri merenja	$\chi^2=56.327$ p =0.000				

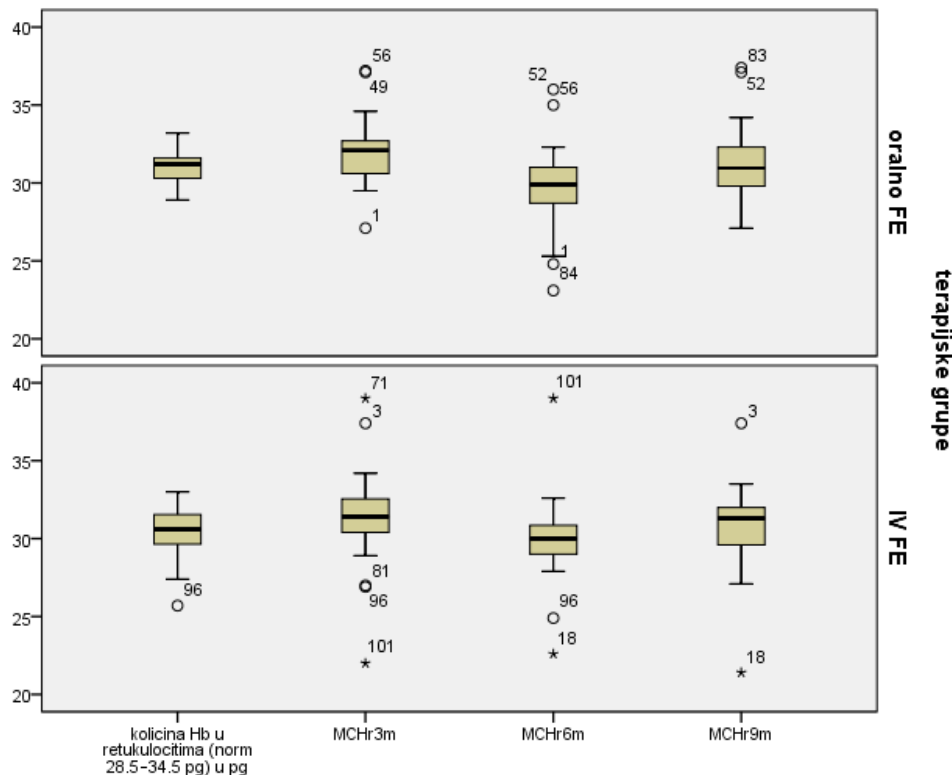
Za poređenje vrednosti ovog parametra kod bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti CHr ista u obe terapijske grupe. U sva četiri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti CHr nisu bili statistički međusobno različite.

Uvidom u Tabelu 27 zaključujemo da je u grupi na peroralnoj terapiji gvoždem (grupa Per os FE) kod 38 bolesnika i u grupi na parenteralnoj terapiji gvoždem (grupa IV FE) kod 43 bolesnika izmerene su vrednosti za sva četiri merenja. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti CHr u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu i zaključili smo da je raspodela vrednosti u toku četiri merenja bila statistički značajno različita (Fridmanov test $\chi^2=149.547$, p=0.000). Značajnost promena između merenja prikazana je u Tabeli 29.

Statistički značajne promene su nastale: između prvog i drugog; drugog i trećeg i trećeg i četvrtog merenja, dok promene između prvog i četvrtog merenja nisu statistički značajne.

Tabela 29. Značajnost promena količine hemoglobina u retikulocitima između merenja

Meranja	I : II	II : III	III : IV	IV : I
Z	-4.812	6.457	-3.740	-0.702
p	0.000	0.000	0.000	0.482



Grafikon 23. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika količine hemoglobina u retukulocitima između terapijskih grupa Fe

Zaključak. Zadovoljavajući ulazni nivoi CHR u dve terapijske grupe supstitucije Fe kod bolesnika koji su završili studiju (n=92) ukazuju da su bili pravilno randomizirani za procenu efekata supstitucije Fe, peroralno Fe prema IV Fe u stimulaciji eritropoetinom beta u lečenju anemije na hemodijalizi. Održavanje adekvatnog nivoa CHR u obe terapijske grupe, tokom studije, ukazuje da obe terapijske opcije supstitucije Fe obezbeđuju dobru saturaciju gvoždem. Značajan porast CHR uočen je tokom prvih 3 meseca u obe grupe supstitucije Fe.

Negira se eritrocitopoieza u uslovima deficijencije gvožđa.

Napomena. Koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHR) je aktuelni marker raspoloživog funkcionalnog gvožđa, koji je nedavno bio dostupan u eritropoezi. Nizak CHR je marker funkcionalne deficijencije gvožđa kod bolesnika na rHu Epo. Normalna vrednost CHR je 26 pg/ćeliji aproksimativno, a kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi 27.5±2.8 pg/ćeliji. Niže vrednosti CHR < 29 pg/ćeliji govore u prilog deficijencije gvožđa, odnosno, sideropenijske eritropoeze. Smatra se da su vrednosti CHR < 26 pg/ćeliji kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi visoko prediktivne za deficijenciju gvožđa, odnosno, za sideropenijsku eritropoezu. Posle 48 sati od primene IV gvožđa dolazi do oporavka vrednosti koncentracije hemoglobina u retikulocitima (CHR). Parametar CHR koristan je za procenu prometa Fe, kada se započinje nadoknada gvožđa kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi (122).

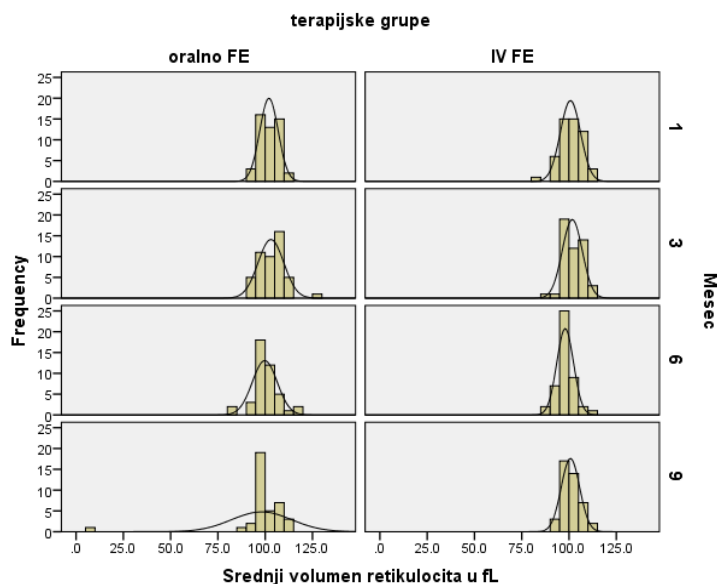
4.1.15. Srednji volumen retikulocita, nezreli eritrociti MCVr (fL) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Statističke karakteristike srednjeg volumena retikulocita (MCVr) prikazane su u Tabeli 30 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 24). Vrednosti MCVr statistički se značajno ne razlikuju od normalne raspodele u prvom i drugom merenju.

Tabela 30. Statističke mere srednjeg volumena retikulocita po terapijskim grupama, i u toku merenja

Tip terapije Fe	Statističke mere	fL	MCVr1m fL	MCVr3m fL	MCVr6m fL	MCVr9m fL
Per os	N		49	48	43	38
	Missing		0	1	6	11
	Mean		101.98	103.01	99.75	100.41
	Median		102.00	103.50	99.40	98.80
	SD		4.89	6.79	6.57	6.01
	Minimum		92.70	90.20	83.00	85.60
	Maximum		114.00	126.00	117.00	114.00
	Percentiles	25	98.25	97.70	97.00	97.70
		50	102.00	103.50	99.40	98.80
	75	106.00	108.75	103.00	105.25	
IV	N		52	50	46	43
	Missing		0	2	6	9
	Mean		100.72	101.68	97.94	100.72
	Median		101.00	101.00	97.55	100.00
	SD		5.34	5.27	4.42	4.87
	Minimum		84.60	89.20	88.00	90.20
	Maximum		111.00	113.00	111.00	113.00
	Percentiles	25	97.15	97.68	95.28	98.00
		50	101.00	101.00	97.55	100.00
	75	105.00	106.00	100.00	103.00	
K-S test Statističke mere			0.079	0.089	0.102	0.184
P			0.122	0.056	0.024	0.000
Mann u test						
Srednji rank – Oralna terapija			54.64	52.35	50.45	38.32
Srednji rank – IV terapija			47.57	46.76	39.90	43.37
Z			-1.215	-0.975	-1.927	-0.967
Značajnost razlike			0.215	0.330	0.054	0.334
Fridmanov test za četiri merenja		$\chi^2 = 33.741$ p = 0.000				

Za poređenje vrednosti srednjeg volumena retikulocita (MCVr) bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti srednjeg volumena retikulocita (MCVr) ista u obe terapijske grupe. U sva četiri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti srednjeg volumena retikulocita (MCVr) nisu bili statistički međusobno različite.



Grafikon 24. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti srednjeg volumena retikulocita između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Uvidom u Tabelu 30 zaključujemo da je 38 bolesnika u grupi bolesnika koji su dobijali peroralni preparat gvožđa - grupa Per os FE i 43 bolesnika u grupi koja je dobijala parenteralni preparat gvožđa - grupa IV FE imalo je vrednosti za sva četiri merenja. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili smo da raspodela nije bila identična u odnosu na pojedina merenja (Fridmanov test $\chi^2 = 33.7415$, $p=0.000$).

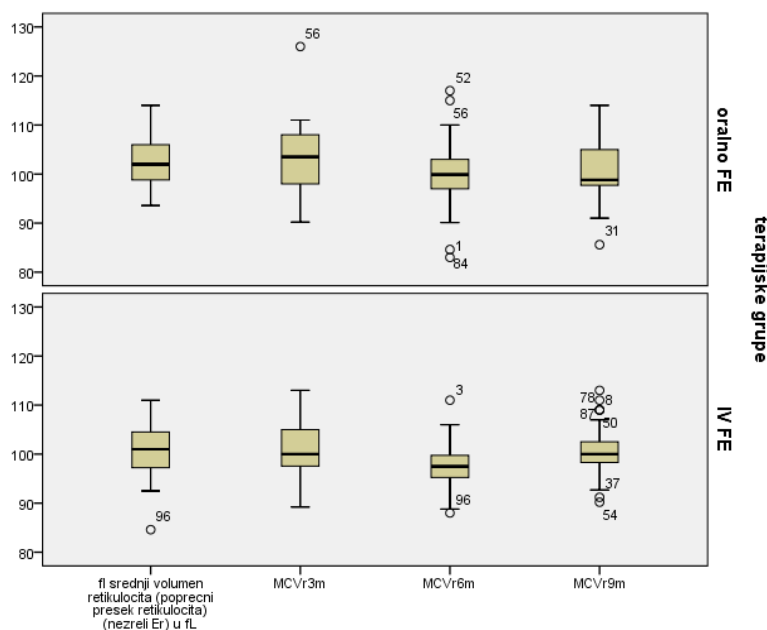
Između prvog i drugog merenja nije nastala statistički značajna promena u raspodeli vrednosti srednjeg volumena retikulocita (MCVr $Z=-1.499$, $p=0.134$). Između drugog i trećeg merenja nastalo je statistički značajno smanjenje vrednosti MCVr ($Z=-5.694$, $p=0.000$). Između trećeg i četvrog merenja nastale promene nisu bile statistički značajne

($Z=-1.799$, $p=0.072$). Promene između prvog i četvrtog merenja nisu bile statistički značajne ($Z=-0.813$, $p=0.416$).

Vrednosti MCVr u grupi na per os terapiji (Per os FE) ukazuju da promene u distribuciji vrednosti između prvog i drugog merenja nisu bile statistički značajne

($Z=-1.313$, $p=0.189$), između drugog i trećeg merenja uočeno je statistički značajno smanjenje vrednosti MCVr (-3.606 , $p=0.000$), a između trećeg i četvrtog merenja promene nisu bile statistički značajne ($z=-0.868$, $p=0.386$). Ukupne promene između prvog i četvrtog merenja nisu bile statistički značajne ($Z=-1.267$, $p=0.205$).

U drugoj grupi (IV FE), promene vrednosti MCVr između prvog i četvrtog merenja nisu bile statistički značajne ($Z=-0.211$, $p=0.833$). Između prvog i drugog merenja nije bilo statistički značajnih promena ($Z=-0.932$, $p=0.351$). Promene su bile značajne između drugog i trećeg merenja ($Z=-4.469$, $p=0.000$), kao i između trećeg i četvrtog merenja ($Z=-3.508$, $p=0.000$).



Grafikon 25. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika srednjeg volumena retikulocita između terapijskih grupa Fe

Zaključak: MCVretikulocita je opadao između 3eg i 6og meseca na peroralnoj terapiji Fe, a stabilan je na IV Fe.

Napomena .Kod bolesnika koji pokazuju deficijenciju depoa gvožđa, MCVr pokazuje brzi porast posle nadoknade gvožđa, a ponovo brzo opada u slučaju sideropenijske eritropoeze (127).

4.1.16. Solubilni transferinski receptor, sTfR (mg/L) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji rHuEpo beta tokom 9 meseci praćenja

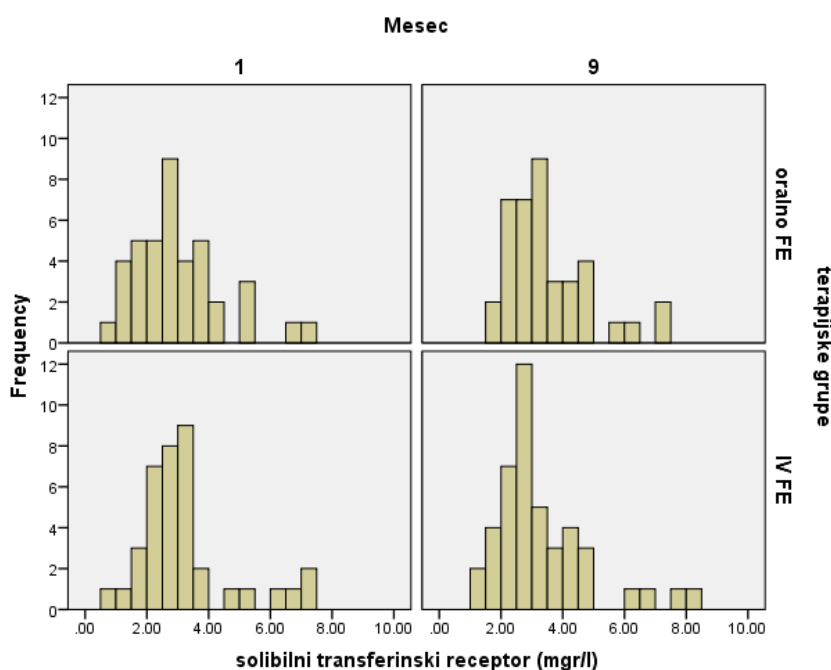
Statističke karakteristike solubilnog transferinskog receptora (sTfR) prikazane su u Tabeli 31 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 26). Vrednosti sTfR statistički se značajno razlikuju od normalne raspodele, i u prvom i drugom merenju.

Tabela 31. Statističke karakteristike vrednosti solubilnog transferinskog receptora u terapijskim grupama, u prvom i devetom mesecu

Tip terapije Fe	Statističke mere		sTfR1m mg/L	sTfR9m mg/L
Per os	N		40	39
	Missing		9	10
	Mean		2.98	3.48
	Median		2.68	3.08
	SD		1.49	1.35
	Minimum		0.56	1.62
	Maximum		7.32	7.20
	Percentiles	25	1.82	2.50
		50	2.68	3.08
		75	3.65	4.03
IV	N		37	44
	Missing		15	8
	Mean		3.20	3.32
	Median		2.95	2.92
	SD		1.56	1.52
	Minimum		0.64	1.20
	Maximum		7.17	8.13
	Percentiles	25	2.26	2.38
		50	2.95	2.92
		75	3.37	4.02
K-S test Statističke mere			0.144	0.149
P			0.000	0.000
Srednji rank – Oralna terapija Fe			37.53	44.40
Srednji rank – IV terapija Fe			40.59	39.88
Z			-0.602	-0.853
Značajnost razlike			0.547	0.394
Wilcoxon test vezanih uzoraka		Z= -1.447 p=0.148		

U grupi bolesnika koji su bili na peroralnoj supstituciji gvožđem (grupa per os PFE) medijana sTfR u prvom merenju iznosila je 2.68 mg/L dok je u drugom njena vrednost bila 3.08 mg/L. U prvom merenju 25 percentil je iznosio 1.82 mg/L a u drugom 2.50 mg/L, dok je 75 percentil u prvom merenju iznosio 3.65 mg/L, a u drugom 4.03 mg/L.

U grupi bolesnika na IV Fe (grupa IV FE) u prvom merenju medijana sTfR iznosila je 2.95 mg/L, dok je na drugom merenju njena vrednost bila 2.92 mg/L. Na prvom merenju 25 percentil je iznosio 2.26 mg/L a na drugom 2.38 mg/L, dok 75 percentil na prvom merenju je iznosio 3.37 mg/L a na drugom 4.02 mg/L.

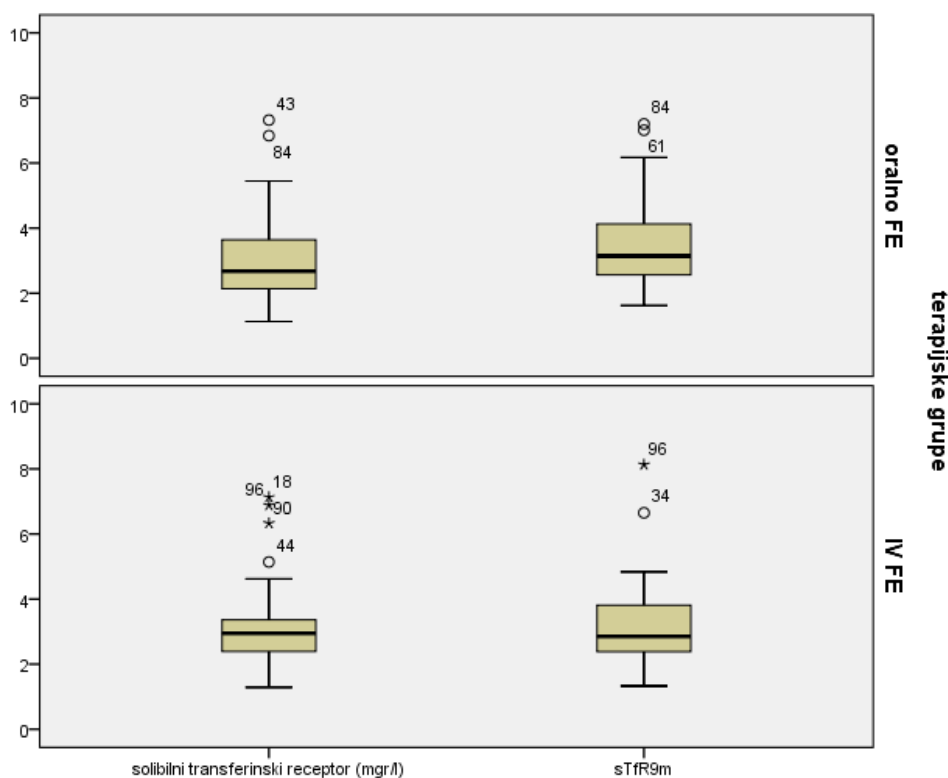


Grafikon 26. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti solubilnog transferinskog receptora (sTfR) između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Za poređenje vrednosti solubilnog transferinskog receptora (sTfR) bolesnika između dve terapijske grupe Fe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti solubilnog transferinskog receptora (sTfR) ista u obe terapijske grupe. U oba merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti solubilnog transferinskog receptora (sTfR) nisu bili statistički međusobno različite (($Z=-0.602$, $p=0.547$); ($Z=-0.853$, $p=0.394$)).

Za poređenje razlike nastale između dva merenja, na nivou svih bolesnika, koristili smo Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana

razlike između dva merenja jednaka nuli. Rezultat Wilcoxon testa vezanih uzoraka ($Z=-1.447$ $p=0.148$, $p=0.148$) ukazuje da nemamo razloga za odbacivanje nulte hipoteze i da medijana razlike vrednosti sTfR nije statistički značajno različita od nule. Analizom je obuhvaćeno 39 bolesnika iz grupe Per os Fe i 37 iz grupe IV Fe.



Grafikon 27. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika solubilnog transferinskog receptora između terapijskih grupa Fe

Zaključak: Praćenje sTfR kod bolesnika obe grupe Fe ukazuje da su bili -adekvatno saturisani gvoždem tokom terapije rHuEpo.

Napomena. Koncentracija sTfR je indikator (marker) feremije. Nedostatak gvožđa u organizmu dovodi do pojačane ekspresije receptora za sTfR i povećanja koncentracije sTfR u perifernoj krvi, i on postaje detektibilan. Posle nadoknade gvožđa dolazi do opada koncentracija sTfR ispod nivoa detekcije. Poseban značaj određivanja sTfR je u stanjima inflamacije, akutne infekcije, maligniteta i drugih hroničnih stanja u kojima drugi markeri nisu od značaja zbog direktnog uticaja pomenutih stanja na njihove vrednosti u serumu. Referentne vrednosti sTfR su 1.8-4.6 mg/L.

Porast vrednosti sTfR u serumu govori u prilog deficijencije gvožđa i potrebe za njegovom povećanom apsorpcijom, a pad vrednosti u krvi na zadovoljavajući sadržaj gvožđa u organizmu(105).

4.1.17. Indeks sTfR prema feritinu, sTfR/ LG10(feritin) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji rHuEpo beta tokom 9 meseci praćenja

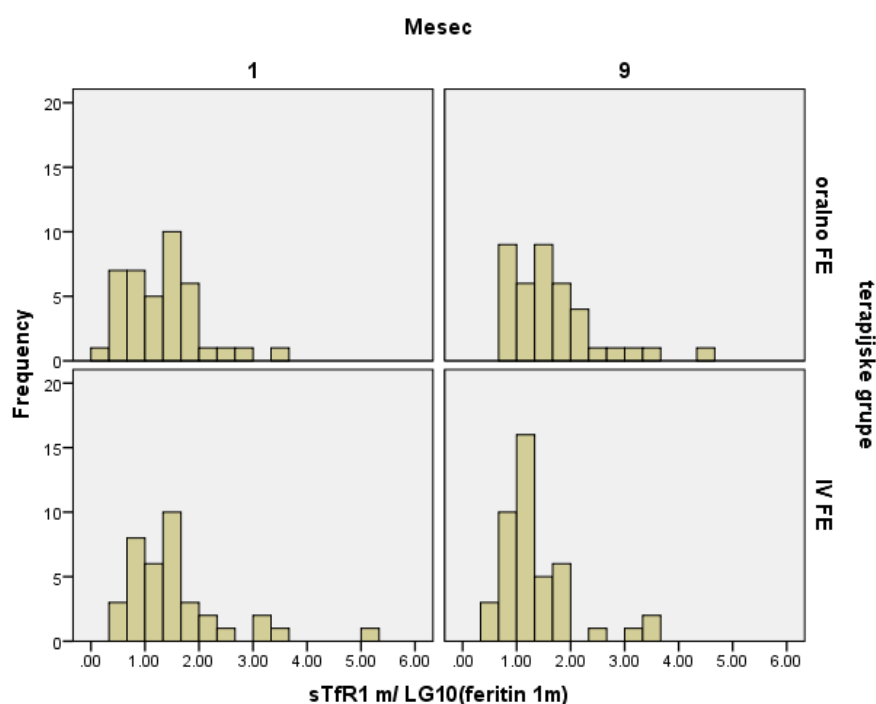
Statističke karakteristike indeksa sTfR prema feritinu prikazane su u Tabeli 32 i u obliku box-plot grafikona (Grafikon 28), a vrednosti indeksa sTfR prema feritinu statistički se značajno razlikuju od normalne raspodele u prvom i drugom merenju.

Tabela 32. Statističke karakteristike vrednosti indeksa sTfR prema feritinu po terapijskim grupama Fe, u prvom i devetom mesecu

Tip terapije Fe	Statističke mere		sTfR/LG10feritin mesec 1	sTrR/LG10feritin mesec 9
Per os	N		40	39
	Missing		9	10
	Mean		1.31	1.63
	Median		1.25	1.39
	SD		0.69	0.80
	Minimum		0.19	0.71
	Maximum		3.61	4.50
	Percentiles	25	0.77	1.05
		50	1.25	1.39
		75	1.69	2.00
IV	N		37	44
	Missing		15	8
	Mean		1.58	1.35
	Median		1.46	1.16
	SD		0.93	0.66
	Minimum		0.44	0.48
	Maximum		5.07	3.45
	Percentiles	25	0.94	0.91
		50	1.46	1.16
		75	1.83	1.64
K-S test Statističke mere			0.142	0.165
P			0.001	0.000
Srednji rank – Oralna terapija			36.18	47.62
Srednji rank – IV terapija			42.05	37.02
Z			-1.162	-1.998
Značajnost razlike			0.249	0.046
Wilcoxon test vezanih uzoraka		Z= -0.445 p=0.656		

U grupi bolesnika na per os terapiji (grupa Per os FE) medijana indeksa sTfR prema feritinu na prvom merenju iznosila je 1.25, dok u devetom mesecu iznosi 1.39. Na prvom merenju 25 percentil je iznosio 0.77, u devetom mesecu 1.05, dok je 75 percentil na prvom merenju iznosio 1.69, u devetom mesecu 2.00.

U drugoj grupi bolesnika (grupa IV FE), medijana indeksa sTfR prema feritinu na prvom merenju iznosila je 1.46, dok na drugom merenju medijana iznosi 1.16. Na prvom merenju 25 percentil je iznosio 0.94, a na drugom 0.91, dok 75 percentil na prvom merenju je iznosio 1.83, a na drugom merenju 1.64 (Grafikon 29).

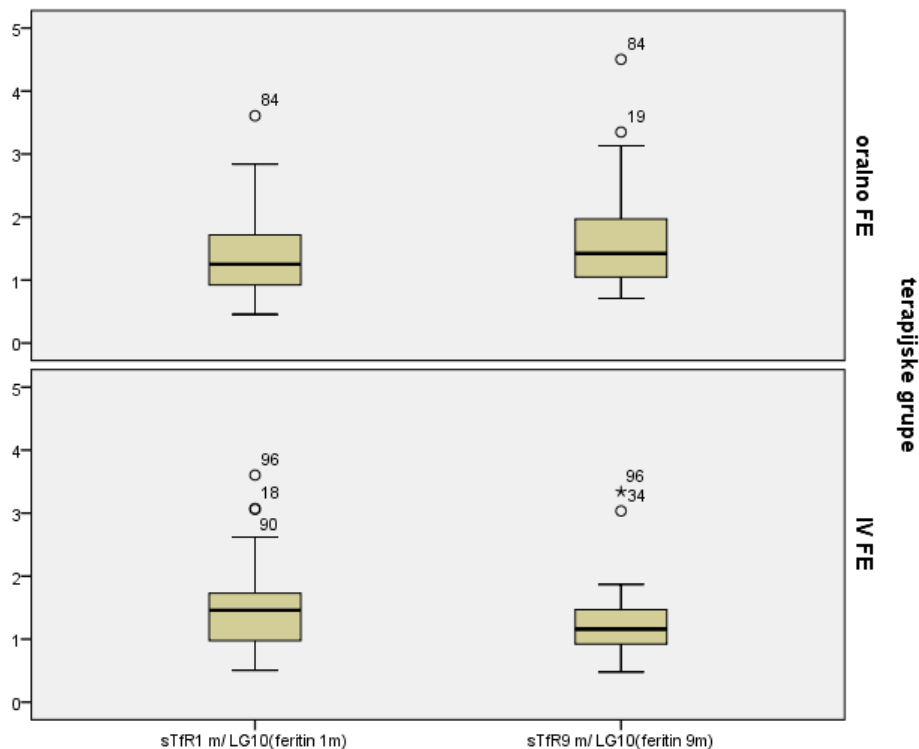


Grafikon 28. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti indeksa sTfR prema feritinu između terapijskih grupa Fe, kao histogram frekvencija

Za poređenje vrednosti ovog parametra bolesnika između dve terapijske grupe, u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti indeksa sTfR prema feritinu ista u obe terapijske grupe. U prvom merenju nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze ($Z=-1.162$, $p=0.249$), dok smo u drugom ($Z=-1.998$, $p=0.046$) odbacili nultu hipotezu, odnosno, raspodele vrednosti parametra bile su statistički međusobno različite.

Za poređenje razlike nastale između dva merenja, na nivou svih bolesnika, koristili smo Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana

razlike između dva merenja jednaka nuli. Rezultat ($Z=-0.445$, $p=0.656$) ukazuje da medijana razlike vrednosti indeksa sTfR prema feritinu nije statistički značajno različita od nule. Analizom je obuhvaćeno 39 bolesnika iz prve grupe i 37 iz druge grupe (Grafikon 29).



Grafikon 29. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika indeksa sTfR prema feritinu između terapijskih grupa Fe

Zaključili smo da se Ix sTfR/feritin povećao na peroralnoj terapiji Fe, a smanjio na terapiji IV Fe posle 9 meseci, kada se ostvaruje značajna međusobna razlika ($p=0.046$).

Nepomena. Odnos serumskog transferinskog receptora (sTfR) i serumskog feritina (sTfR/feritin, R/F ratio) procenjuje depoa gvožđa. Nedavne studije pokazuju da je ovaj odnos pouzdaniji u odslikavanju realne situacije u raspoloživosti gvožđa prema rezervama Fe. Promena vrednosti R/F odnosa reflektuje apsorpciju gvožđa kao i ostvareno povećanje depoa gvožđa u telu posle peroralne suplementacije Fe (133,134).

4.1.18. Efikasnost terapije gvoždem i eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja na osnovu hematoloških parametara i parametara prometa gvožđa prikazani su na shemama 4 do 7.

Shema 4. Kretanje vrednosti hematoloških parametara tokom svih merenja između terapijskih grupa

	Oralno Fe				IV Fe			
	1m	1m prema 3m	3m prema 6m	6m prema 9m	1m	1m prema 3m	3m prema 6m	6m prema 9m
Er x10 ¹² /L	mean±SD 3.34 ±0,60	→ stab.	→ stab.	↑* porast	mean±SD 3.42 ±0,65	→ stab.	→ stab.	↑* porast
Hb g/L	mean±SD 108.55 ±17.82	→ stab.	→ stab.	→ stab.	mean±SD 501.81 ±19.76	→ stab.	→ stab.	→ stab.
Hct L/L	mean±SD 0.32 ±0.05	→ stab.	→ stab.	↑** porast	mean±SD 0.31 ±0,06	→ stab.	→ stab.	↑** porast
MCV fL	mean±SD 91.92 ±5.07	↓* opada	→ stab.	↑* porast	mean±SD 90.41 ±4.22	↑* porast	→ stab.	↑* porast
MCHC g/L	mean±SD 344.31 ±9.24	→ stab.	↓* opada	↓* opada	mean±SD 342.79 ±8.47	→ stab.	↑* porast	↓* opada
HRC %	Med 1.37	→ stab.	→ stab.	→ stab. opada ns	Med 1.06	→ stab.	→ stab.	→ stab.
Rtc %	Med 1.65	→ stab.	→ stab.	→ stab.	Med 1.63	→ stab.	↓* opada	↓** opada
CHCr g/L	Med 304.78	↑* porast	→ stab.	→ stab. 1m vs 9m ↑* (porast)	Med 303.28	↑* porast	↓** opada	→ stab. 1m vs 9m ↑* (porast)
CHr pg/ćel	Med 31.20	↑** porast	↓** opada	↑** porast	Med 30.65	↑** porast	↓** opada	↑** porast
MCVr fL	Med 102.23	→ stab.	↓* opada	→ stab.	Med 100.63	→ stab.	↓** opada	↑** porast

* p<0.05 ** p<0.01

Shema 5. Promene parametara prometa gvožđa tokom svih merenja u dve terapijske grupe

	Oralno Fe				IV Fe			
	1m Med.	1m prema 3m	3m prema 6m	6m prema 9m	1m Med.	1m prema 3m	3m prema 6m	6m prema 9m
sFe $\mu\text{mol/L}$	12.79	↓* opada	→ stab.	→ stab.	Med 10.32	→ stab.	→ stab.	↑* porast
TIBC $\mu\text{mol/L}$	29.28	↑* porast	↑* porast	↑* porast	Med 34.97	→ stab.	→ stab.	↑* porast
TSAT %	44.31	↓* opada	→ stab.	→ stab.	Med 29.12	→ stab.	→ stab.	→ stab.
Transferrin g/L	1.358	→ stab.	→ stab.	↑* porast	Med 1.716	↓* opada	→ stab.	↑* porast
Feritin ng/mL	277.05	→ stab.	→ stab.	↑* porast	Med 131.17	→ stab.	→ stab.	↑** porast
sTfR mg/L	2.68			1m vs 9m → stab.	Med 2.95			1m vs 9m → stab.
sTfR/ig.feritin%	1.34			1m vs 9m → porast ns	Med 1.13			1m vs 9m → opada ns

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Shema 6. Razlike u vrednostima hematoloških parametara u svim tačkama merenja, između terapijskih grupa

	Oralno Fe prema IV FE razlike			
	1m	3m	6m	9m
Er x10 ¹² /L	ns	ns	ns	ns
HGB g/L	ns	ns	ns	ns
Hct L/L	ns	ns	ns	ns
MCV fL	ns	ns	ns	ns
MCHC g/L	ns	ns	* Per os↑* IV ↓*	ns
HRC %	ns	ns	ns	ns
Rtc %	ns	ns	ns	ns
CHCr g/L	ns	ns	ns	ns
CHr pg/ćel	ns	ns	ns	ns
MCVr fL	ns	ns	ns	ns

* p<0.05 ** p<0.01

Shema 7. Razlike u vrednostima parametara feremije u svim tačkama merenja, između terapijskih grupa

	Oralno Fe prema IV Fe razlike			
	1m	3m	6m	9m
sFe μmol/L	** IV niže u odnosu na Per os	ns	ns	ns
TIBC μmol/L	** IV niže u odnosu na Per os	ns	* Per os ↑* IV ↑*	* Per os ↑* IV ↑*
TSAT %	** IV niže u odnosu na Per os	** p os ↓** iv ↑*	ns	ns
Transferin g/L	** IV veće u odnosu na Per os	ns	ns	** Per os ↑** IV ↑**
Feritin ng/mL	ns	ns	ns	* Per os ↑* IV ↑**
sTfR mg/L	ns			ns
sTfR/Ig.feritin %	ns			* Per os ↓* IV ↑*
CHr pg/ćel	ns	ns	ns	ns

* p<0.05 ** p<0.01

4.2. PROMENE HEMATOLOŠKIH PARAMETARA IZMEĐU GRUPA NOSIOCA GENOTIPA ACE II/DI PREMA ACE DD, TOKOM 9 MESECI PRAĆENJA

4.2.1. Koncentracija hemoglobina u eritrocitima, hemoglobin (HGB g/L) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere koncentracije hemoglobina u grupama genotipa ACE II/DI i DD prikazane su u Tabeli 33.

Nivo hemoglobina u grupi nosioca ACE II/DI kretao se od minimalnih 64.00 g/L do 169.00 g/L, prosečnom vrednošću 110.65 g/L i odstupanjem od 17.99 g/L. Slično, u grupi nosiolaca ACE genotipa DD ove vrednosti su iznosile 81.85 g/L do 102.00 g/L, prosečna vrednost 98.41 g/L sa odstupanjem od 18.18 g/L. Prosečna vrednost hemoglobina u prvoj grupi (ACE genotip II/DI) bila je statistički značajno veća (t -test=3.083 i $p=0.003$). Razlika između prosečnih vrednosti hemoglobina u grupi bolesnika sa genotipom II/DI, od prosečne vrednosti hemoglobina u grupi genotip DD, na drugom i četvrtom merenju nije bila statistički značajna.

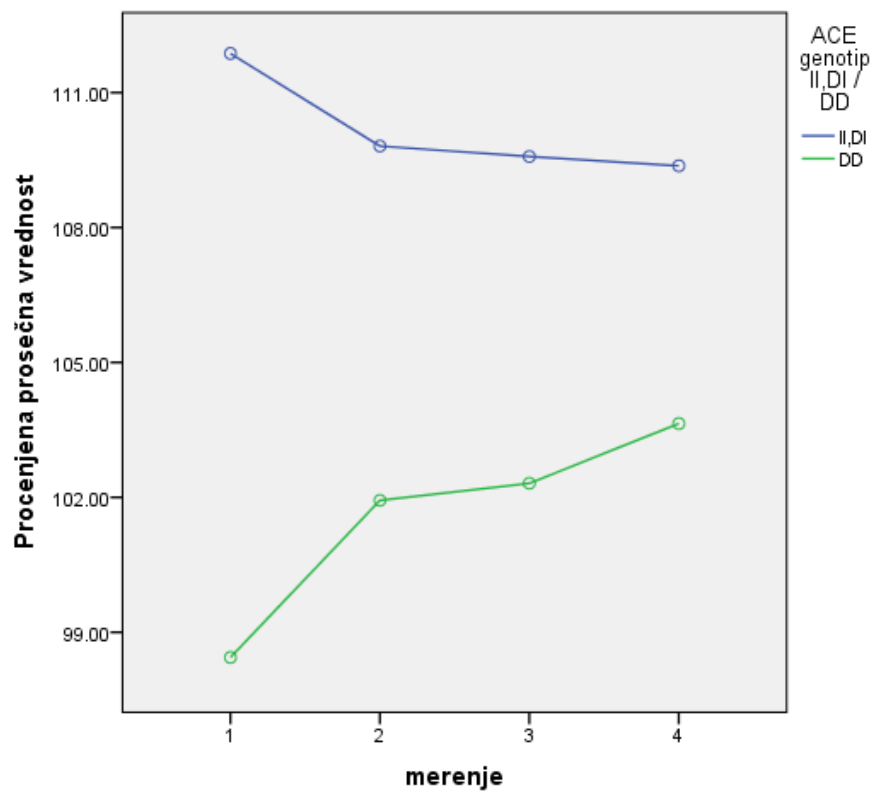
Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih nivoa hemoglobina u sva četiri vremena (1m, 3m, 6m i 9m) između dve grupe ACE genotipa 92 bolesnika koji su završili studiju. U prvom mesecu nije bilo razlika u vrednosti hemoglobina ($p=0.382$), Tabela 7a. Model promena nivoa hemoglobina bio je različit, vrednosti hemoglobina u grupi sa ACE genotipom II/DI od prvog do drugog merenja opadaju, a zatim su stabilne. U drugoj grupi, sa ACE genotipom DD, vrednosti hemoglobina su u porastu između prvog i drugog merenja, a zatim su stabilne. Međutim, i pored evidentnih razlika (Tabela 33, Grafikon 30) promene između grupa nisu bile statistički značajne između pojedinih merenja, a ni između grupa u okviru pojedinog merenja (Tabela 34). Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika sa ACE genotipom II/DI i 25 bolesnika sa ACE genotipom DD, ukupno 92 bolesnika koji su završili studiju.

Tabela 33. Statističke mere koncentracije hemoglobina u grupama genotipa ACE II/DI i ACE DD

ACE genotip	Statističke mere		HGB1m g/L	HGB3m g/L	HGB6m g/L	HGB9m g/L
II,DI	N		72	69	68	67
	Missing		0	3	4	5
	Mean		110.65	109.47	109.34	109.37
	Median		110.50	108.00	109.50	112.00
	SD		17.99	15.43	15.28	14.86
	Minimum		64.00	67.00	79.10	75.00
	Maximum		169.00	149.00	143.00	139.00
	Percentiles	25	99.33	98.50	96.20	97.00
		50	110.50	108.00	109.50	112.00
75		122.75	117.50	121.75	120.00	
DD	N		29	29	25	25
	Missing		0	0	4	4
	Mean		98.41	103.91	102.31	103.64
	Median		102.00	104.00	102.00	105.00
	SD		18.18	16.73	14.46	19.44
	Minimum		60.70	69.40	73.80	53.00
	Maximum		128.00	142.00	134.00	136.00
	Percentiles	25	81.85	91.90	89.30	94.50
		50	102.00	104.00	102.00	105.00
75		113.00	111.50	114.50	117.00	
t-test		3.083	1.598	1.993	1.509	
P		0.003	0.115	0.490	0.135	

Tabela 34. Značajnost promena između merenja i grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.256	0.614
	Merenje2 vs. Merenje3	0.003	0.954
	Merenje3 vs. Merenje4	0.131	0.718
Merenje * ACE Genotip	Merenje1 vs. Merenje2	3.851	0.053
	Merenje2 vs. Merenje3	0.058	0.813
	Merenje3 vs. Merenje4	0.245	0.622



Grafikon 30. Kretanje vrednosti hemoglobina u okviru grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Zaključak. Slične su vrednostima u nivoima hemoglobina između grupa ACE I/D genotipa. Hemoglobin u krvi raste tokom prvih 3 meseca u grupi ACE DD.

4.2.2. ANALIZA HEMOGLOBIN SA DVA FAKTORA - Koncentracija hemoglobina u eritrocitima (HGB g/L) u okviru grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD i modaliteta supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji rHuEpo beta tokom 9 meseci praćenja

U Tabeli 35 prikazane su aritmetičke sredine i standardne devijacije hemoglobina pojedinih grupa ACE genotipa I/D i oblika terapije supstitucije gvožđa za ukupno 92 bolesnika koji su završili devetomesečnu studiju.

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih nivoa hemoglobina u sva četiri vremena (1m, 3m, 6m i 9m) između dve grupe ACE genotipa II/DI i DD i dva oblika terapija Fe: grupe Per os FE i IV FE. Model promena nivoa hemoglobina bio je različit, vrednosti hemoglobina u grupi sa ACE genotipom II i DI od prvog do trećeg merenja opadaju, a zatim su stabilne. U drugoj grupi sa ACE genotipom DD vrednosti hemoglobina rastu između prvog i trećeg meseca, a zatim nastavljaju da rastu sve do devetog meseca. Model promena hemoglobina između grupa ACE genotipa I/D od prvog do trećeg meseca statistički je značajno različit ($F=4.539$, $p=0.036$). Promene modela između grupa u narednim merenjima nisu statistički značajne (Grafikon 31).

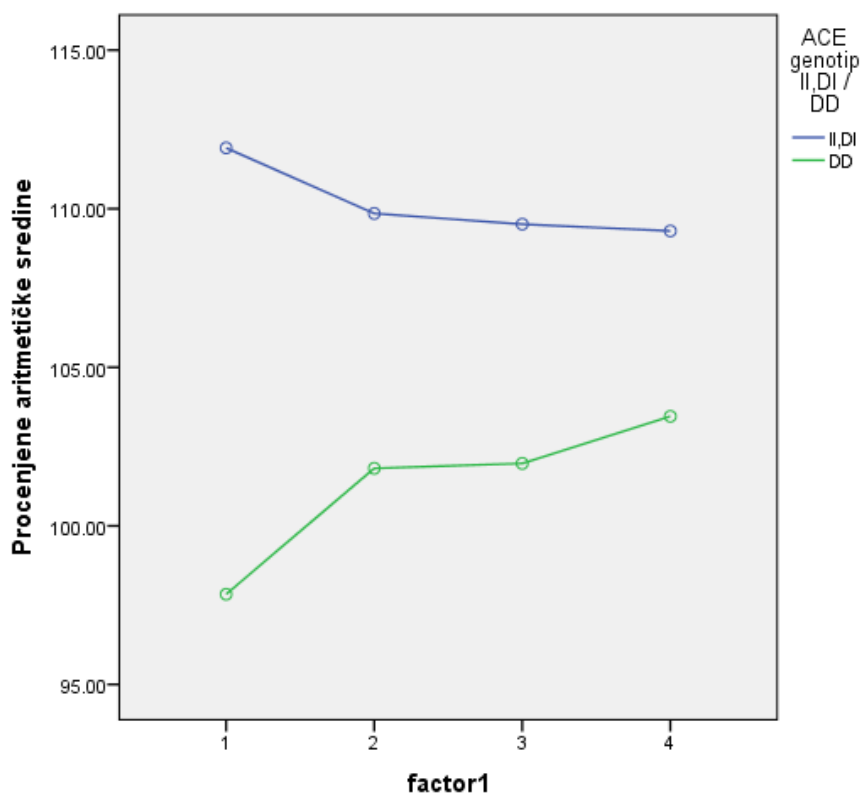
Posmatrano prema terapijskim grupama Fe model promene u toku merenja nije statistički značajno različit (Tabela 36, Grafikon 32). Ne postoji interakcija između merenja u okviru grupa ACE genotipa i terapijskih grupa Fe. Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika sa ACE genotipom II/DI i 25 bolesnika sa ACE genotipom DD, ukupno 92 bolesnika.

Tabela 35. Statističke karakteristike koncentracije hemoglobina u eritrocitima u okviru grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD i modaliteta supstitucije gvožđa

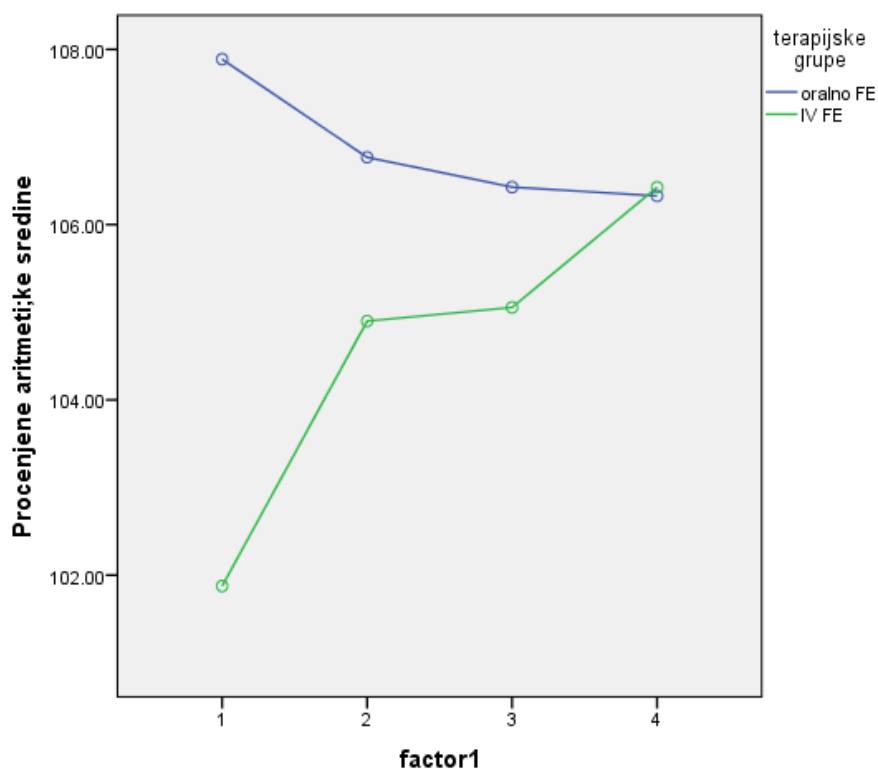
Merenje	ACE genotip II,DI / DD	Terapijske grupe	Mean	SD	N
Hemoglobin 1m	II,DI	oralno FE	112.98	16.11	32
		IV FE	110.86	17.27	35
		Total	111.87	16.63	67
	DD	oralno FE	102.80	16.19	14
		IV FE	92.89	20.29	11
		Total	98.44	18.41	25
	Total	oralno FE	109.88	16.64	46
		IV FE	106.56	19.41	46
		Total	108.22	18.06	92
Hemoglobin 2m	II,DI	oralno FE	110.75	15.26	32
		IV FE	108.95	15.93	35
		Total	109.81	15.52	67
	DD	oralno FE	102.79	17.48	14
		IV FE	100.85	17.21	11
		Total	101.93	17.03	25
	Total	oralno FE	108.33	16.20	46
		IV FE	107.01	16.42	46
		Total	107.67	16.23	92
Hemoglobin 6m	II,DI	oralno FE	108.03	15.82	32
		IV FE	110.99	14.81	35
		Total	109.58	15.26	67
	DD	oralno FE	104.82	17.04	14
		IV FE	99.12	10.22	11
		Total	102.31	14.46	25
	Total	oralno FE	107.06	16.08	46
		IV FE	108.15	14.67	46
		Total	107.60	15.31	92
Hemoglobin 9m	II,DI	oralno FE	107.66	16.17	32
		IV FE	110.94	13.61	35
		Total	109.37	14.86	67
	DD	oralno FE	105.00	21.33	14
		IV FE	101.91	17.59	11
		Total	103.64	19.44	25
	Total	oralno FE	106.85	17.70	46
		IV FE	108.78	14.96	46
		Total	107.82	16.32	92

Tabela 36. Značajnost promena između merenja i u okviru grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD i modaliteta supstitucije gvožđa

Source	Merenje	F	Sig.
Merenje	Mesc 1 vs. Mesc 3	0.451	0.504
	Mesc 3 vs. Mesc 6	0.005	0.943
	Mesc 6 vs. Mesc 9	0.163	0.687
Merenje * ACE genotip	Mesc 1 vs. Mesc 3	4.539	0.036
	Mesc 3 vs. Mesc 6	0.037	0.848
	Mesc 6 vs. Mesc 9	0.291	0.591
Merenje * GrTer	Mesc 1 vs. Mesc 3	2.138	0.147
	Mesc 3 vs. Mesc 6	0.038	0.847
	Mesc 6 vs. Mesc 9	0.218	0.642
Merenje * ACE1 * GrTer	Mesc 1 vs. Mesc 3	1.823	0.180
	Mesc 3 vs. Mesc 6	2.769	0.100
	Mesc 6 vs. Mesc 9	0.131	0.718



Grafikon 31. Kretanje vrednosti hemoglobina u okviru grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD



Grafikon 32. Kretanje vrednosti hemoglobina dve terapijske grupe supstitucije gvožđa, tokom 9 meseci

Zaključak. Vrednosti hemoglobina u grupi ACE I/D od prvog do trećeg merenja opadaju, a zatim su stabilne. U grupi ACE DD vrednosti hemoglobina rastu između prvog i trećeg meseca, a zatim nastavljaju da rastu sve do devetog meseca.

Model promena hemoglobina u grupama ACE genotipa I/D od prvog do trećeg meseca je statistički značajno različit ($F=4.539$, $p=0.036$), kada se uključe u procenu i razlike zbog pripadnosti terapijskoj grupi modaliteta supstitucije Fe.

4.2.3. Broj eritrocita u krvi (RBC x10¹²/L) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere prosečnog broja eritrocita u grupama ACE genotipa II/DI i genotipa ACE DD prikazan je u Tabeli 37. Broj eritrocita u grupi nosioca ACE genotipom II ili DI kretao se od minimalnih 2.19 x10¹²/L do 5.67 x10¹²/L, sa prosečnom vrednošću 3.53 x10¹²/L i odstupanjem od 0.60 x10¹²/L. U drugoj grupi bolesnika, koji su imali ACE genotip DD ove vrednosti su iznosile 2.10 x10¹²/L do 4.36 x10¹²/L, prosečna vrednost 3.18 x10¹²/L, sa odstupanjem od 0.62 x10¹²/L.

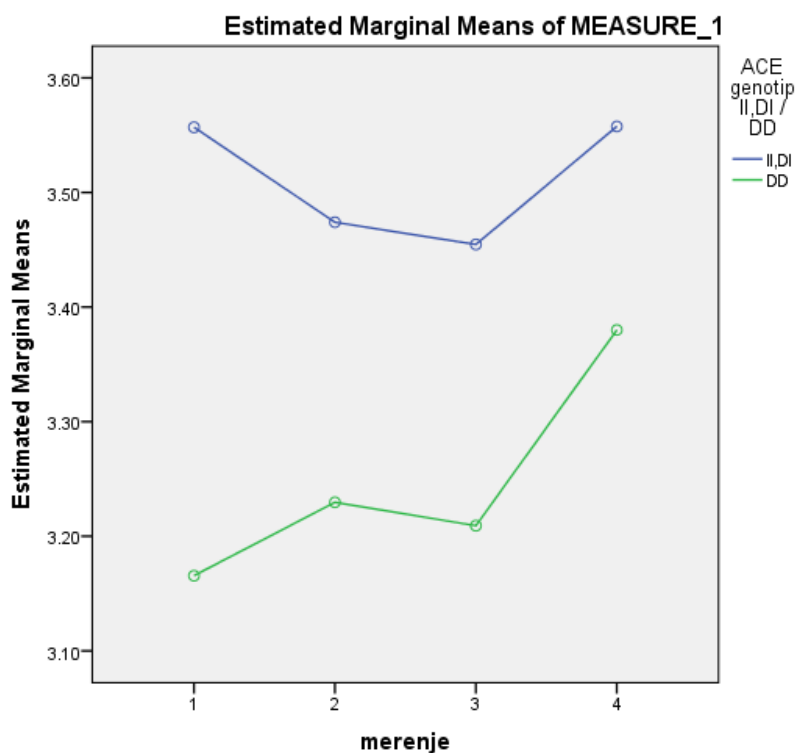
Tabela 37. Statističke mere broja eritrocita u krvi između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD, za sva 4 merenja

ACE genotip	Statističke mere		RBC1	RBC3	RBC6	RBC9
II,DI	N		72	69	68	67
	Missing		0	3	4	5
	Mean		3.53	3.47	3.45	3.56
	Median		3.52	3.39	3.44	3.51
	SD		0.60	0.53	0.50	0.52
	Minimum		2.19	2.11	2.44	2.58
	Maximum		5.67	4.95	4.88	5.17
	Percentiles	25	3.18	3.09	3.18	3.13
		50	3.52	3.39	3.44	3.51
75		3.90	3.81	3.77	3.97	
DD	N		29	29	25	25
	Missing		0	0	4	4
	Mean		3.18	3.30	3.21	3.38
	Median		3.18	3.39	3.15	3.47
	SD		0.62	0.58	0.49	0.65
	Minimum		2.10	1.92	2.12	1.60
	Maximum		4.36	4.36	4.38	4.51
	Percentiles	25	2.68	3.01	2.87	3.15
		50	3.18	3.39	3.15	3.47
75		3.72	3.62	3.60	3.74	
t-test		2.604	1.351	2.065	1.357	
P		0.011	0.180	0.042	0.178	
Značajnost razlike						

Prosečna vrednost broja eritrocita u prvoj grupi (ACE genotip II/DI) od $3.53 \times 10^{12}/L$ statistički je značajno veća od prosečne vrednosti u drugoj grupi (genotip DD) koja je iznosila $3.18 \times 10^{12}/L$. (t-test = 2.604 i p= 0.011) posmatrano za 101 bolesnika koji su prošli protokol pripreme za studiju. Razlika između prosečnih vrednosti broja eritrocita između dve grupe bolesnika na drugom i četvrtom merenju nije bila statistički značajna, dok je u trećem merenju razlika bila statistički značajna, prosečni broj eritrocita u grupi ACE II/DI iznosi $3.45 \times 10^{12}/L$, a u grupi ACE DD $3.21 \times 10^{12}/L$ (t-test=2.065 i p=0.042).

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti broja eritrocita u sva četiri vremena (1m, 3m, 6m i 9m) između dve grupe ACE I/D genotipa kod 92 bolesnika koji su završili studiju.

Model promena nivoa broja eritrocita između grupa nije statistički različit. Prosečna vrednost broja eritrocita koja je u dve grupe ACE genotipa I/D bila je slična na prvom merenju (Tabela 7a), u grupi ACE II/DI od prvog do trećeg merenja opada, od trećeg do šestog meseca je stabilna, a zatim do kraja 9 meseca blago raste. U grupi ACE DD prosečne vrednosti broja eritrocita blago rastu između prvog i trećeg merenja, a zatim su stabilne, a od šestog do devetog meseca su u porastu. Međutim, i pored evidentnih razlika prikazanih na Tabelama 37,38 i Grafikonu 33 promene između grupa nisu statistički značajne. Za obe grupe je karakterističan značajan porast prosečne vrednosti eritrocita od šestog do devetog meseca (F=7.166. p=0.009). Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika sa ACE genotipom II/DI i 25 bolesnika sa ACE genotipom DD, ukupno 92 bolesnika.



Grafikon 33. Praćenje broja eritrocita u krvi između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci

Tabela 38. Značajnost promena između merenja i grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.036	0.851
	Merenje2 vs. Merenje3	0.215	0.644
	Merenje3 vs. Merenje4	7.166	0.009
Merenje * genotip	Merenje1 vs. Merenje2	2.170	0.144
	Merenje2 vs. Merenje3	0.000	0.991
	Merenje3 vs. Merenje4	0.440	0.509

4.2.4. Broj retikulocita u krvi ($\times 10^9/L$) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja

Statistička merenja broja retikulocita za dve grupe ACE genotipa (II/DI i DD) u sva četiri merenja prikazane su u Tabeli 39. Na prvom merenju broj retikulocita kod bolesnika u grupi ACE II/DI kretao se od minimalnih $11.20 \times 10^9/L$ do $159.00 \times 10^9/L$, medijana $58.05 \times 10^9/L$, 25-percentilom $40.13 \times 10^9/L$ i 75-percentilom $72.58 \times 10^9/L$. U drugoj grupi ACE DD broj retikulocita kretao se od minimalnih $33.10 \times 10^9/L$ do maksimalnih $142.00 \times 10^9/L$, sa medijanom $62.10 \times 10^9/L$, 25 percentilom $50.95 \times 10^9/L$ i 75 percentilom $79.70 \times 10^9/L$. Primenom Shapiro-Wilk testa zaključili smo da se raspodela vrednosti retikulocita značajno razlikuje od normalne.

Tabela 39. Statističke mere broja retikulocita u krvi između grupa ACE II/DI i ACE DD

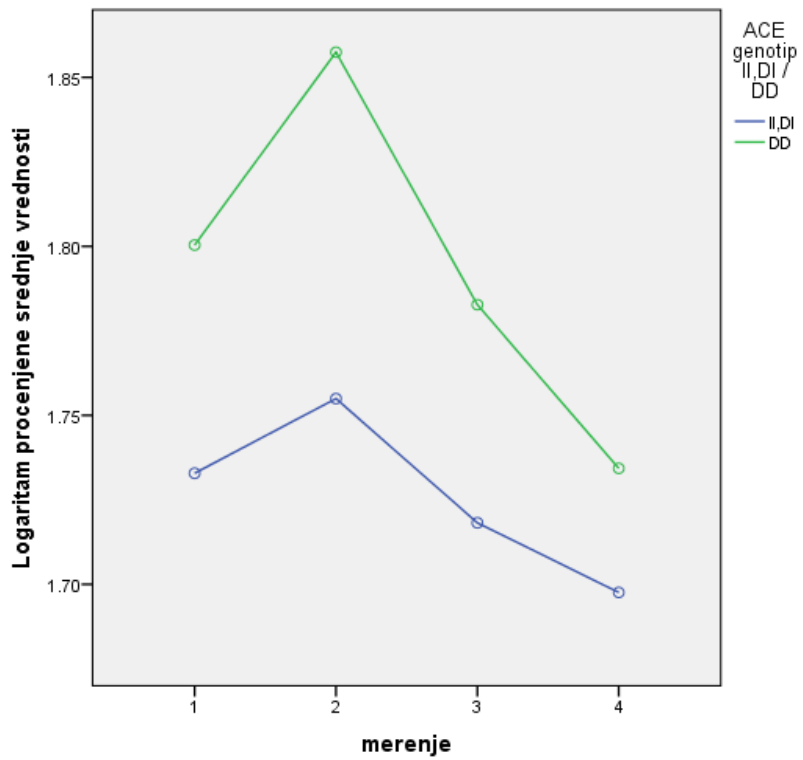
ACE genotip	Statističke mere		Ret $\times 10^9/L$ 1m	Ret $\times 10^9/L$ 3m	Ret $\times 10^9/L$ 6m	Ret $\times 10^9/L$ 9m
II,DI	N		72	69	65	61
	Missing		0	3	7	11
	Mean		60.73	64.06	59.32	56.11
	Median		58.05	62.10	55.70	47.90
	SD		28.72	26.46	28.58	28.70
	Minimum		11.20	15.70	21.00	23.00
	Maximum		159.00	139.00	162.00	151.00
	Percentiles	25	40.13	46.10	38.80	33.75
		50	58.05	62.10	55.70	47.90
75		72.58	76.80	72.70	72.70	
DD	N		29	29	25	23
	Missing		0	0	4	6
	Mean		68.29	75.29	65.36	59.17
	Median		62.10	73.10	59.20	54.20
	SD		25.99	24.38	25.23	25.68
	Minimum		33.10	44.20	29.90	23.00
	Maximum		142.00	132.00	137.00	129.00
	Percentiles	25	50.95	52.70	47.40	42.20
		50	62.10	73.10	59.20	54.20
75		79.70	85.35	80.60	73.00	
Shapiro-Wilk	pre log transformacije		0.922	0.945	0.886	0.890
P			0.000	0.002	0.000	0.000
Shapiro-Wilk	posle log transformacije		0.990	0.982	0.989	0.975
P			0.750	0.310	0.741	0.108

U cilju stvaranja preduslova za analize modela GLM promena broja retikulocita između merenja i u okviru pojedinih merenja, primenili smo logaritamsku transformaciju originalnih vrednosti retikulocita. Transformisane vrednosti pripadale su normalnoj raspodeli.

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti logaritama retikulocita u sva četiri vremena (1m, 3m, 6m i 9m) između dve grupe genotipa kod ukupno 92 bolesnika (Tabela 40). Model promena između grupa nije bio statistički značajno različit. Kretanje vrednosti broja retikulocita u obe grupe od prvog do trećeg merenja je u porastu, a potom do kraja u opadanju. Promene koje nastaju između prvog i trećeg meseca merenja, trećeg i šestog i između šestog i devetog meseca merenja su statistički značajne ($p=0.033$; $p=0.002$; $p=0.000$). **Zaključak.** Promene u grupi ACE II/DI slede promene u drugoj grupi ACE DD, ali na nižem nivou, Grafikon 34. Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika sa genotipom II/DI i 25 bolesnika sa genotipom DD.

Tabela 40. Značajnost promena između merenja broja Rtc grupa ACE II/DI i ACE DD

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	4.711	0.033
	Merenje2 vs. Merenje3	10.050	0.002
	Merenje3 vs. Merenje4	14.436	0.000
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.919	0.341
	Merenje2 vs. Merenje3	1.166	0.284
	Merenje3 vs. Merenje4	2.345	0.130



Grafikon 34. Kretanje broja retikulocita u krvi između grupa ACE II/DI i ACE DD

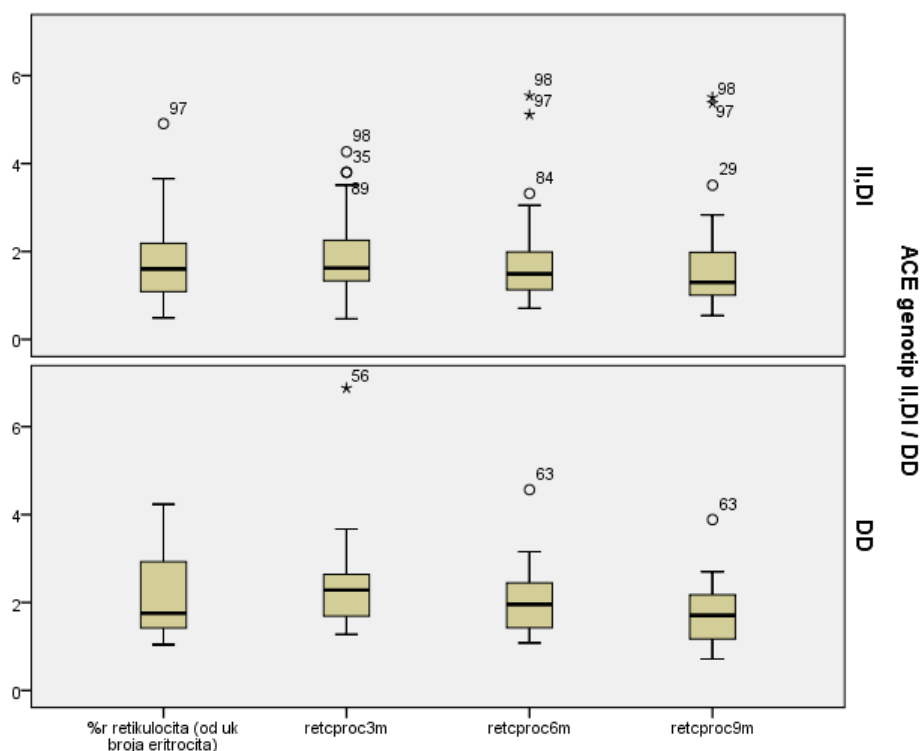
4.2.5. Procenat retikulocita (%Rtc) od ukupnog broja eritrocita između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja

Statističke mere procenta retikulocita (%Rtc) prikazane su u Tabeli 41 i grafički su prikazane u obliku *box-plot* grafikona (Grafikoni 35.36). Vrednosti ovog parametra, statistički, značajno se razlikuju u prvom i trećem merenju od normalne raspodele. Medijana %Rtc na prvom merenju u grupi ACE II/DI iznosila je 1.63%, 25-percentil 1.10% dok 75-percentil 2.22%. U grupi ACE DD medijana je iznosila 2.12%, 25-percentil 1.42% a 75-percentil 2.93%.

Tabela 41. Statističke mere procenta retikulocita od ukupnog broja eritrocita između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

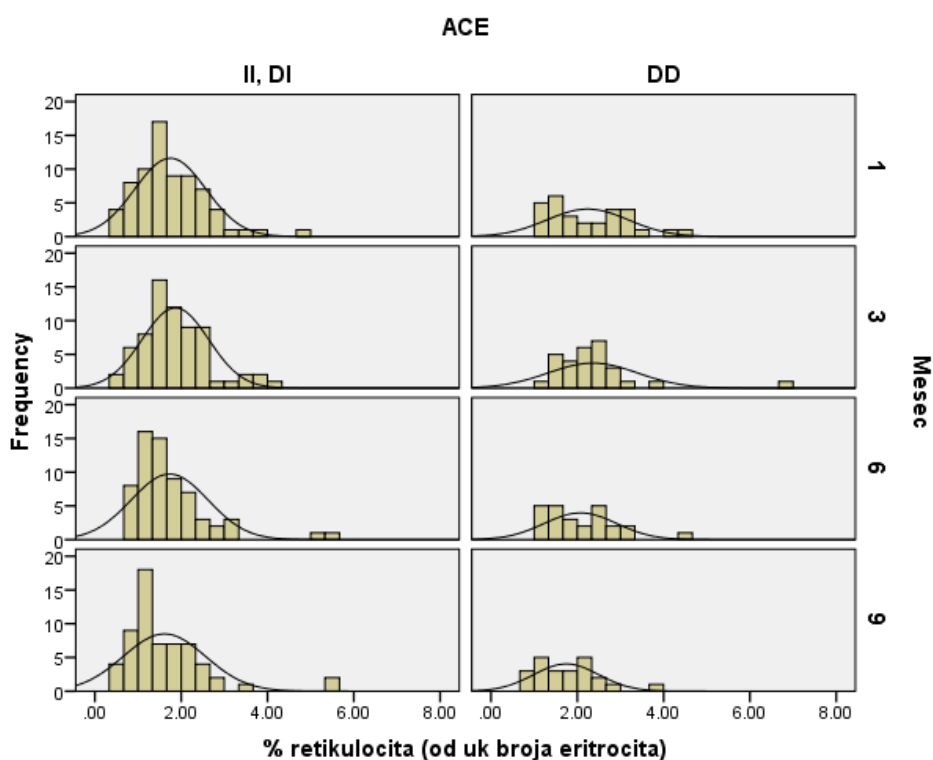
ACE genotip	Statističke mere		%Rtc 1m	%Rtc 3m	%Rtc 6m	%Rtc 9m
II,DI	N		72	69	65	61
	Missing		0	3	7	11
	Mean		1.75	1.86	1.73	1.61
	Median		1.63	1.69	1.51	1.33
	SD		0.82	0.77	0.89	0.96
	Minimum		0.36	0.47	0.71	0.54
	Maximum		4.91	4.27	5.54	5.50
	Percentiles	25	1.10	1.37	1.14	1.00
		50	1.63	1.69	1.51	1.33
	75	2.22	2.29	2.01	2.04	
DD	N		29	29	25	23
	Missing		0	0	4	6
	Mean		2.24	2.36	2.07	1.74
	Median		2.12	2.20	1.97	1.71
	SD		0.95	1.04	0.84	0.76
	Minimum		1.04	1.27	1.08	0.71
	Maximum		4.46	6.88	4.57	3.89
	Percentiles	25	1.42	1.71	1.42	1.13
		50	2.12	2.20	1.97	1.71
	75	2.93	2.57	2.47	2.19	
Shapiro-Wilk			0.935	0.846	0.825	0.821
P			0.000	0.000	0.000	0.000
Srednji rank – II, DI			46.78	44.33	41.82	40.52
Srednji rank – DD			61.48	61.79	55.08	47.74
Z			-2.282	-2.775	-2.157	-1.209
Značajnost razlike			0.022	0.006	0.031	0.227
Fridmanov test za četiri merenja			$\chi^2=24.498$ p=0.000			

Za poređenje vrednosti %Rtc između dve grupe ACE genotipa I/D u okviru pojedinih merenja koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti procenta retikulocita ista u obe terapijske grupe. U prva tri merenja postoji statistički značajna razlika u distribuciji vrednosti %Rtc između grupa (Z=-2.282, p=0.022; Z=-2.775, p=0.006; Z=-2.157, p=0.031), kada je u grupi ACE DD srednji rang %Rtc bio značajno veći. U četvrtom merenju nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji vrednosti %Rtc između grupa (Z=-1.209, p=0.227).



Grafikon 35. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razika procenta retikulocita od ukupnog broja eritrocita između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Zaključak. Kretanje srednjih vrednosti procenta retikulocita od ukupnog broja eritrocita u grupi ACE II/DI od prvog do trećeg meseca bio je gotovo identičan, opada do šestog meseca i stabilana je do kraja ispitivanja. U grupi ACE DD srednje vrednosti rastu do trećeg meseca, zatim opadaju u poslednjem trimestru (Grafikon 35).



Grafikon 36. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti procenta retikulocita od ukupnog broja eritrocita između grupe ACE II/DI i grupe ACE DD

Ukupno 92 bolesnika, u grupi ACE II/DI 67 i u grupi ACE DD 25 bolesnika imali su vrednosti %Rtc za sva četiri merenja. Primenom Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima, testirali smo hipotezu da su vrednosti u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili smo da je raspodela vrednosti %Rtc u sva četiri merenja bila statistički značajno različita (Fridmanov test $\chi^2 = 24.498$ p = 0.000), Grafikon 36.

Zaključak. Kod 92 bolesnika koji su završili studiju, % Rtc je bio sličan na početku merenja između grupa ACE I/D, opada u grupi ACE I/D od šestog meseca, dok u grupi ACE DD raste tokom prva tri meseca terapije.

4.2.6. Količina hemoglobina u retikulocitima (CHr, pg/ćel) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja

Statističke karakteristike količine hemoglobina u retikulocitima (CHr) prikazane su u Tabeli 42 i u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 37), a vrednosti ovog parametra statistički značajno se razlikuju u prvom i trećem merenju od normalne raspodele.

Medijana CHr na prvom merenju u grupi bolesnika sa genotipovima II/DI iznosila je 30.72 pg/ćel, 25-percentil 29.63 pg/ćel dok je 75-percentil 31.78 pg/ćel. U drugoj grupi bolesnika sa ACE genotipom DD medijana je iznosila 31.00 pg/ćel, 25-percentil 29.90 pg/ćel a 75-percentil 31.45 pg/ćel.

Tabela 42. Statističke mere prosečne količine hemoglobina u retikulocitima između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

ACE genotip	Statističke mere		CHr1m pg/ćeliji	CHr3m pg/ćeliji	CHr6m pg/ćeliji	CHr9m pg/ćeliji
ACE II/DI	N		72	69	66	58
	Missing		0	3	6	14
	Mean		30.72	31.53	29.67	30.90
	Median		30.70	31.90	29.75	31.05
	SD		1.50	2.32	2.50	2.25
	Minimum		25.70	22.00	22.60	21.40
	Maximum		33.30	37.40	39.00	37.40
	Percentiles	25	29.63	30.40	28.80	29.60
		50	30.70	31.90	29.75	31.05
	75	31.78	32.70	30.90	32.00	
ACE DD	N		29	29	24	23
	Missing		0	0	5	6
	Mean		30.59	31.94	30.42	31.20
	Median		31.00	31.90	29.90	31.30
	SD		1.49	2.21	2.00	2.02
	Minimum		25.20	28.90	27.90	27.10
	Maximum		32.70	39.00	36.00	37.40
	Percentiles	25	29.90	30.35	29.10	29.80
		50	31.00	31.90	29.90	31.30
	75	31.45	32.75	31.00	32.40	
K-S test			0.091	0.109	0.133	0.130
P			0.037	0.006	0.000	0.002

Za poredjenje vrednosti CHr između dve grupa genotipa ACE u okviru pojedinih merenja, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti CHr ista u obe terapijske grupe. U sva četiri merenja nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti CHr nisu bili statistički međusobno različite.

Tabela 43. Značajnost raspodele količine hemoglobina u retikulocitima (CHr) u četiri merenja kod 92 bolesnika

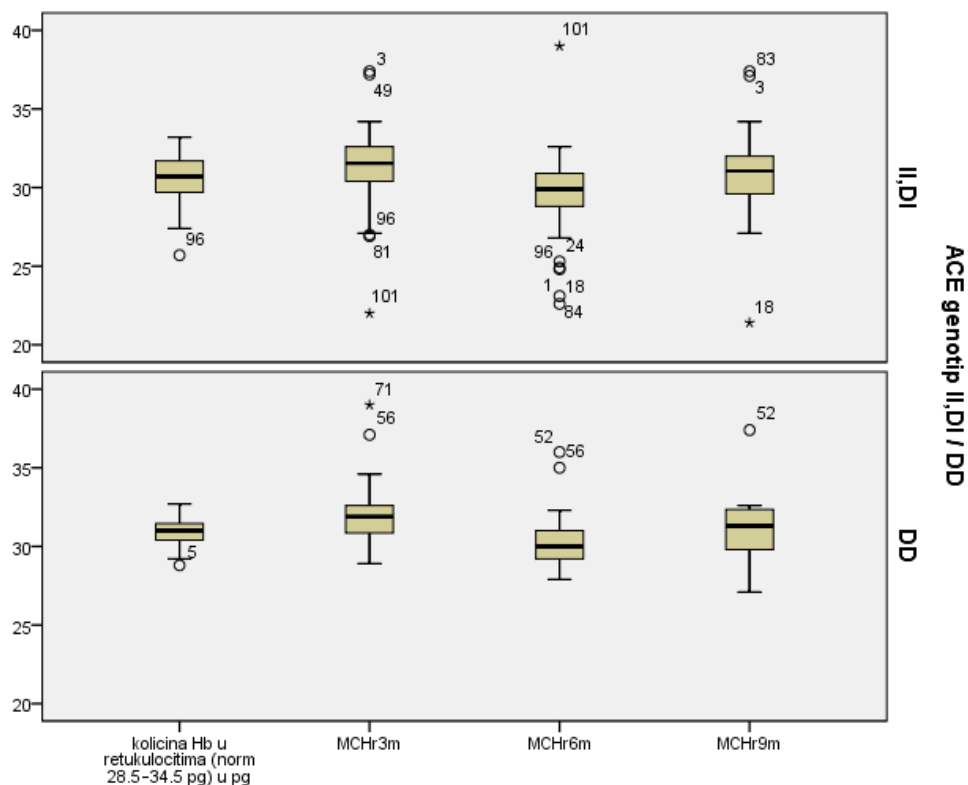
Značajnost razlike između grupa u toku pojedinih merenja					
Između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD		CHr1m	CHr3m	CHr6m	CHr9m
Srednji rank – ACE II, DI		51.810	48.990	43.590	39.830
Srednji rank – ACE DD		49.000	50.720	50.750	43.960
Z		-0.436	-0.276	-1.150	-0.713
Značajnost razlike		0.663	0.782	0.250	0.476
Fridmanov test za četiri merenja	$\chi^2=56.327$ p =0.000				

U grupi sa ACE genotipom II ili DI 58 bolesnika i u grupi sa ACE genotipom DD 23 bolesnika imalo je vrednosti CHr za sva četiri merenja. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti CHr u sva četiri merenja imale istu raspodelu. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili smo nultu hipotezu, odnosno, zaključili smo da je raspodela vrednosti CHr u sva četiri merenja bila statistički značajno različita (Fridmanov test $\chi^2=56.327$, p=0.000). Značajnost promena između merenja prikazana je u Tabeli 43.

Statistički značajne promene su nastale: između prvog i drugog; drugog i trećeg i trećeg i četvrtog merenja, dok promene između prvog i četvrtog merenja nisu statistički značajne (Tabela 44).

Tabela 44. Značajnost promena količine hemoglobina u retikulocitima između merenja kod 92 bolesnika u dve grupe genotipa ACE I/D

Merenja	1m : 3m	3m : 6m	6m : 9m	9m : 1m
Z	-4.812	6.457	-3.740	-0.702
p	0.000	0.000	0.000	0.482



Grafikon 37. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razika količine hemoglobina u retikulocitima između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Zaključak. Količina sadržaja hemoglobina u retikulocitima (CHR) oscilirala je od početnih >27 pg/ćeliji slično u obe grupe ACE I/D genotipa, porastom od 1og do 3eg meseca, opadanjem od 3eg do 6og meseca, porastom od 6og do 9og meseca. Najmanje izmerene vrednosti CHR u ACE DD genotipu su bile iznad 25.7 pg/ćel, a u grupi ACE II/DI iznad 22 pg/ćel. Indirektno ukazuje na bolju saturaciju Fe u grupi sa ACE DD genotipom.

4.2.7. Prosečni volumen eritrocita, mean cell volume (MCV, fL) između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, tokom 9 meseci praćenja

Statističke vrednosti prosečnog volumena eritrocita (MCV, fL) prikazane su u Tabeli 45 i njihovo kretanje tokom 9 meseci istraživanja na Grafikonu 38.

Početna vrednost MCV u grupi sa ACE genotipom II/DI kretao se od minimalnih 78.40 fL do 101.00 fL, sa prosečnom vrednošću 91.16 fL i odstupanjem 4.78 fL. Vrednost medijane je bila 90.00 fL, 25-percentilom 87.45 fL i 75-percentilom 94.80 fL. U grupi bolesnika sa ACE genotipom DD prosečna vrednost MCV je 91.09 fL, sa odstupanjem od 4.53 fL, vrednost medijane 91.50 fL, 25-percentil 87.75 fL i 75-percentilom 93.15 fL.

Tabela 45. Statističke mere prosečnog volumena eritrocita (MCV, fL) između grupa ACE II/DI i ACE DD

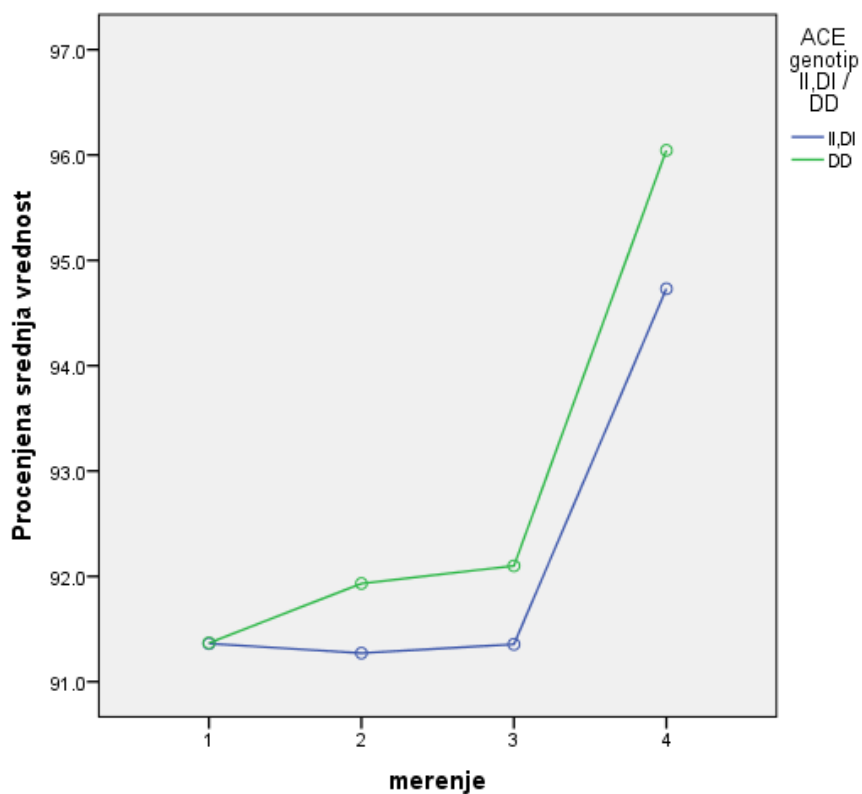
ACE genotip	Statističke mere		MCV 1m fL	MCV 3m fL	MCV 6m fL	MCV 9m fL
II,DI	N		72	69	68	67
	Missing		0	3	4	5
	Mean		91.16	91.18	91.27	94.73
	Median		90.00	90.10	90.75	95.40
	SD		4.78	4.86	4.89	4.73
	Minimum		78.40	80.20	77.40	85.70
	Maximum		101.00	101.00	102.00	104.60
	Percentiles	25	87.45	87.10	88.40	90.90
		50	90.00	90.10	90.75	95.40
75		94.80	95.25	94.68	98.80	
DD	N		29	29	25	25
	Missing		0	0	4	4
	Mean		91.09	91.75	92.10	96.04
	Median		91.50	91.30	91.50	96.00
	SD		4.53	4.74	3.88	4.48
	Minimum		83.20	82.60	85.30	88.00
	Maximum		100.90	106.00	101.00	107.00
	Percentiles	25	87.75	88.40	89.65	93.35
		50	91.50	91.30	91.50	96.00
75		93.15	94.45	94.00	98.35	
Shapiro-Wilk		0.977	0.986	0.988	0.986	
p		0.106	0.459	0.579	0.423	
t-test		0.066	-0.537	-0.764	-1.201	
p		0.948	0.593	0.447	0.224	

Primenom Shapiro-Wilk testa pokazali smo da se raspodela vrednosti retikulocita ne razlikuje statistički značajno od normalne. Ni u jednom od 4 merenja nije postojala statistički značajna razlika u prosečnim vrednostima MCV, $p > 0.05$ (Tabela 45).

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti MCV eritrocita u sva četiri vremena (1m, 3m, 6m i 9m) između dve grupe genotipa ACE I/D. Model promena između grupa nije statistički značajno različit. Od prvog do drugog merenja u grupi sa genotipom ACE II/DI došlo je do smanjivanja prosečne vrednosti MCV eritrocita, a u drugoj grupi ACE DD do blagog povećanja. U nastavku merenja promene u aritmetičkim modelima između grupa su slične i ne postoji statistički značajna razlika između njih. Na nivou svih bolesnika, između trećeg i četvrtog merenja, došlo je do statistički značajnog povećanja vrednosti MCV. Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika sa genotipom II/DI i 25 bolesnika sa genotipom DD, ukupno 92

Tabela 46. Značajnost promena prosečnog volumena eritrocita između merenja i grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	0.509	0.477
	Merenje2 vs. Merenje3	0.149	0.700
	Merenje3 vs. Merenje4	86.285	0.000
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.977	0.326
	Merenje2 vs. Merenje3	0.017	0.897
	Merenje3 vs. Merenje4	0.522	0.472



Grafikon 38. Kretanje vrednosti prosečnog volumena eritrocita između grupa genotipa ACE II/DI i ACE DD

Zaključak. MCV eritrocita je istih početnih vrednosti u grupama ACE genotipa I/D, prosečno 91.2 fl. Slično se kreće u obe grupe ACE I/D genotipa i raste u trećem trimestru, značajno.

4.2.8. Efikasnost terapije gvoždem i eritropoetinom u I/D polimorfizmu ACE genotipa tokom 9 meseci praćenja na osnovu hematoloških parametara i parametara prometa gvožđa prikazani su na Shemama 8 i 9.

Shema 8. Promene vrednosti hematoloških parametara tokom svih merenja između grupa genotipa ACE D/I I ACE DD

	DI/II				DD			
	1m	1m prema 3m	3m prema 6m	6m prema 9m	1m	1m prema 3m	3m prema 6m	6m prema 9m
Hb g/L	110.65 ±17.99	→ stab. opadaju ns	→ stab.	→ stab.	98.41 ±18.18	→ stab. rastu ns	→ stab.	→ stab.
Er x10 ¹² /L	3.53 ±0.60	→ stab. opadaju ns	→ stab.	↑** porast	3.18 ±0.62	→ stab. rastu ns	→ stab.	↑** porast
Rtc x10 ⁹ /L	60.73 ±28.72	↑* porast	↓* opada	↓** opada	68.29 ±25,99	↑* porast	↓* opada	↓** opada
Rtc %	Med 1.63	→ stab. rastu ns	→ stab. opadaju ns	→ stab.	Med 2.12	→ stab. rastu ns	→ stab.	→ stab. opadaju ns
Chr pg/ćel	Med 30.70	↑* porast	↓* opada	↑* porast	Med 31.00	↑* porast	↓* opada	↑* porast
MCV fL	Med 90.00	→ stab. opadaju ns	→ stab.	↑* porast	Med 91.50	→ stab. rastu ns	→ stab.	↑* porast

± znači Xbar±SD * p<0.05 ** p<0.01

Shema 9. Razlike u hematološkom odgovoru i parametrima statusa feremije u svim tačkama merenja između grupa genotipova ACE II/DI i ACE DD

	DI/II prema DD razlike			
	1m	3m	6m	9m
Hb g/L	ns	ns	ns	ns
Er x10 ¹² /L	* DI/II ↑* DD ↓*	ns	* DI/II ↑* DD ↓*	ns
Rtc x10 ⁹ /L	ns	ns	ns	ns
Rtc %	* DD ↑* DI/II ↓*	* DD ↑* DI/II ↓*	* DD ↑* DI/II ↓*	ns
Chr pg/ćel	ns	ns	ns	ns
MCV fL	ns	ns	ns	ns

* p<0.05 ** p<0.01

4.3. UTROŠENO GVOŽĐE I ERITROPOETIN BETA U TERAPIJSKIM GRUPAMA GVOŽĐA I GRUPAMA PREMA GENOTIPU ACE I/D, TOKOM 9 MESECI PRAĆENJA

4.3.1. Peroralno gvožđe glukonat

(gvožđe (II) glukonat+mangan, gvožđe (II) glukonat+bakar)

Mesečne vrednosti peroralnog preparata gvožđa glukonata, kao ukupna mesečna doza (mg), za bolesnika iz grupe Per os FE prikazane su u Tabeli 47. Uočava se velika varijabilnost vrednosti i za analizu promena u distribuciji vrednosti unetog peroralnog preparata gvožđa glukonata, od merenja do merenja, primenjena je Fridman-ova dvofaktorska analiza varijanse sa rangovima.

Medijana prvog merenja peroralnog gvožđa iznosila je 3100 mg, 25 percentil 0 mg, a 75 percentil 3100 mg.

Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse zaključili smo da je raspodela vrednosti u sva četiri merenja bila statistički značajno različita (Fridmanov test $\chi^2 = 165.426$ p = 0.000), Tabela 47.

Tabela 47. Vrednosti mesečne doze peroralnog preparata Fe (gvožđe (II) glukonat+mangan, gvožđe (II) glukonat+bakar) u grupi Per os FE

Fe oral mesečne vrednosti										
Statistics	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
N	49	49	48	48	47	47	47	46	46	
Missing	0	0	1	1	2	2	2	3	3	
Mean	2016.33	2016.33	2158.33	2551.04	2455.32	2626.60	2489.36	2577.17	2676.09	
Median	3100.00	3100.00	2800.00	3100.00	3000.00	3100.00	3000.00	3100.00	3100.00	
SD	1426.07	1426.07	1153.69	1129.98	1104.50	1032.24	1095.89	1106.48	1026.31	
Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
Maximum	3100.00	3100.00	2800.00	3100.00	3000.00	3100.00	3000.00	3100.00	3100.00	
Perce ntiles	25	0.00	0.00	1750.00	3100.00	3000.00	3100.00	3000.00	3100.00	3100.00
	50	3100.00	3100.00	2800.00	3100.00	3000.00	3100.00	3000.00	3100.00	3100.00
	75	3100.00	3100.00	2800.00	3100.00	3000.00	3100.00	3000.00	3100.00	3100.00
K-S test Statističke mere	0.389	0.389	0.461	0.478	0.476	0.485	0.488	0.486	0.486	
Značajnost	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
Fridmanov test Statističke mere $\chi^2=165.426$ p = 0.000										

Podaci za sva merenja postoje za 46 bolesnika i kod 28 nije bilo promena u mesečnoj dozi peroralnog gvožđa. Distribucija ukupne doze po mesecima prikazana je u Tabeli 48. Statistički značajne promene nastale su između trećeg i četvrtog meseca ($Z=-6.098$, $p=0.000$), četvrtog i petog ($Z=-6.125$, $p=0.000$), petog i šestog meseca ($Z=-4.680$, $p=0.000$), šestog i sedmog ($Z=-5.145$, $p=0.000$) i sedmog i osmog meseca ($Z=-4.945$, $p=0.000$). Uvidom u Tabelu 48 zaključujemo da značajno preovladavaju nivoi terapije Fe od 2800 mg peroralnog gvožđa u trećem mesecu, 3000 mg peroralnog gvožđa u četvrtom, petom, šestom i sedmom mesecu, nivo terapije od 3100 mg peroralnog gvožđa u prvom, drugom, osmom i devetom mesecu.

Tabela 48. Distribucija ukupne doze peroralnog gvožđa po mesecima

Fe oral - ukupne mesečne doze									
Ukupne doze Fe oral mg	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	15	15	10	7	7	5	7	6	5
1150	1	1				1		2	2
1400			2		1	1			
1500					2		2		
1550	3	3		3		2		1	
2800			36						
3000				38	37	38	38		1
3100	30	30						37	38
N	49	49	48	48	47	47	47	46	46
Missing	0	0	1	1	2	2	2	3	3
Značajnost razlike između pojedinih merenja (Z, p)	0.00; 1.000								
		-1.334; 0.182							
			-6.098; 0.000						
				-6.125; 0.000					
					-4.680; 0.000				
						-5.145; 0.000			
							-4.945; 0.000		
							-0.687; 0.492		

Zaključak. Značajno preovladavaju nivoi terapije Fe od 2800 mg peroralnog gvožđa u trećem mesecu, 3000 mg peroralnog gvožđa od četvrtog do sedmog meseca, i terapije od 3100 mg peroralnog gvožđa glukonata u prva dva i poslednja dva meseca, tokom 9 meseci terapije.

4.3.2. Intravensko gvožđe glukonat

(kompleks natrijum-gvožđe(III) glukonat, kompleks gvožđe(III) hidroksid saharoza)

Ukupna mesečna doza intravenskog preparata gvožđe glukonata (mg) u grupi bolesnika na parenteralnoj terapiji supstitucije gvožđa (grupa IV FE) prikazane su u Tabeli 49 i Grafikonu 39.

Rezultati K-S testa ukazuju da je raspodela vrednosti u svim merenjima bila statistički značajno različita od normalne raspodele. Medijana prvog merenja iznosila je 200.00mg IV gvožđa, 25 percentil 200.00mg, 50 percentil 200.00mg i 75 percentil 200.00mg.

Uvidom u Tabelu 49 zaključujemo da u grupi na parenteralnoj terapiji gvožđem, (grupa IV FE) postoje podaci za 46 bolesnika za 9 meseci terapije. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima zaključili smo da je raspodela vrednosti u svim merenjima bila statistički značajno različita (Fridmanov test $\chi^2 = 31.841$, $p = 0.000$).

Tabela 49. Statističke karakteristike mesečnih vrednosti parenteralnog preparata gvožđa (kompleks natrijum-gvožđe(III) glukonat, kompleks gvožđe(III) hidroksid saharoza) u grupi IV FE

Statistics	FEIV mesečne vrednosti								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
N	52	52	50	50	47	47	47	47	47
Missing	0	0	2	2	5	5	5	5	5
Mean	411.92	184.62	416.00	208.00	191.49	285.11	178.72	178.72	255.32
Median	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00
SD	439.63	53.81	421.54	150.97	40.81	325.03	62.33	62.33	340.59
Minimum	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Maximum	1200.00	200.00	1200.00	1200.00	200.00	1200.00	200.00	200.00	1200.00
Perce ntiles	25	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	3100.00
	50	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	3100.00
	75	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	200.00	3100.00
K-S test Statističke mere	0.454	0.536	0.476	0.501	0.54	0.497	0.527	0.527	0.458
Značajnost	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Fridmanov test Statističke mere	$\chi^2=31.841$, $p = 0.000$								

Podaci za sva merenja postoje za 47 bolesnika i kod 31 nije bilo promena u mesečnoj dozi parenteralnog gvožđa.

Distribucija ukupne doze parenteralnog preparata gvožđe glukonata po mesecima prikazana je u tabeli 50. Statistički, značajne promene nastale su između prvog i drugog (Z=-3.464 p=0.001), drugog i trećeg meseca (Z=-3.162 p=0.002), trećeg i četvrtog meseca (Z=-2.981 p=0.003) i između šestog i sedmog meseca (Z=-2.236 p=0.025). Nije bilo statistički značajne razlike između četvrtog i petog meseca, petog i šestog meseca, sedmog i osmog meseca i između osmog i devetog meseca. Značajno prevladavaju nivoi doze terapije od 200 mg parenteralnog preparata gvožđa glukonata u svim merenjima (Tabela 50).

Tabela 50. Distribucija ukupne doze parenteralnog preparata gvožđa po mesecima

Grupa IV FE mesečne vrednosti parenteralnog Fe glukonata									
Ukupne doze IV Fe, mg	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	4	4	1	3	2	5	5	5	12
200	36	48	39	46	45	37	42	42	30
1200	12		11	1		15			5
N	52	52	50	50	47	47	47	47	47
Missing	0	0	2	2	5	5	5	5	5
Značajnost razlike između pojedinih merenja (Z, p)	-3.464; 0.001								
		-3.162; 0.002							
			-2.981; 0.003						
				-1.000; 0.317					
					-1.508; 0.132				
						-2.236; 0.025			
							-0.000; 1.000		
								-0.813; 0.416	

Zaključak. Kod 31 od 46 bolesnika nije bilo promena u mesečnoj dozi parenteralnog gvožđe glukonata, a kod 28 od 46 bolesnika nije bilo promena u mesečnoj dozi peroralnog gvožđe glukonata.

Značajno prevladavaju nivoi terapije od 200 mg parenteralnog preparata gvožđa glukonata u svim merenjima. Značajne promene u mesečnoj terapiji su od prvog do četvrtog meseca.

4.3.3. Ukupna mesečna doza eritropoetina beta (rHuEpo beta, IU) između dve terapijske grupe supstitucije gvožđa, grupa Per os FE i grupa IV FE, tokom 9 meseci

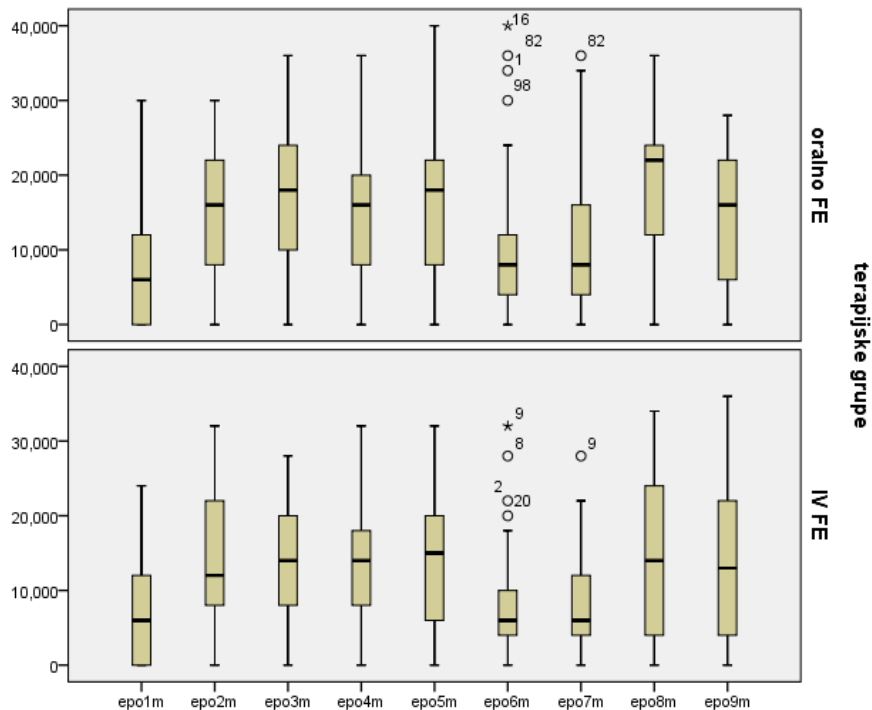
Tabela 51. Statističke karakteristike utrošenih količina rHuEpo beta (IU) na mesečnom nivou, između terapijskih grupa

Grupa per os FE										
N		49	49	48	48	47	47	47	47	46
Missing		0	0	1	1	2	2	2	2	3
Mean		7428. 57	14326. 53	16125. 00	15208. 33	15914. 89	10680. 85	10382. 98	18765. 96	13826. 09
Median		6000. 00	16000. 00	17000. 00	17000. 00	18000. 00	8000. 00	8000. 00	22000. 00	16000. 00
SD		7778. 18	8825. 60	8919. 56	9296. 44	9744. 18	9493. 95	9478. 93	9367. 41	8792. 18
Minimum		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Maximum		30000. 00	30000. 00	36000. 00	36000. 00	40000. 00	40000. 00	36000. 00	36000. 00	28000. 00
Percentiles	25	0.00	8000. 00	8500. 00	8000. 00	8000. 00	4000. 00	4000. 00	10000. 00	6000. 00
	50	6000. 00	16000. 00	17000. 00	17000. 00	18000. 00	8000. 00	8000. 00	22000. 00	16000. 00
	75	12000. .00	22000. 00	23000. 00	20000. 00	22000. 00	12000. 00	16000. 00	24000. 00	22000. 00
Grupa IV FE										
N		52	52	49	48	48	46	46	46	46
Missing		0	0	3	4	4	6	6	6	6
Mean		7884. 62	14000. 00	13795. 92	13958. 33	13416. 67	7956. 52	8565. 22	14695. 65	13043. 48
Median		6000. 00	12000. 00	14000. 00	14000. 00	15000. 00	6000. 00	6000. 00	14000. 00	13000. 00
SD		7100. 55	8865. 00	7373. 88	7679. 65	9076. 12	6972. 83	6090. 62	10466. 60	9975. 43
Minimum		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Maximum		24000. 00	32000. 00	28000. 00	32000. 00	32000. 00	32000. 00	28000. 00	34000. 00	36000. 00
Percentiles	25	500. 00	8000. 00	7000. 00	8000. 00	6000. 00	4000. 00	4000. 00	4000. 00	4000. 00
	50	6000. 00	12000. 00	14000. 00	14000. 00	15000. 00	6000. 00	6000. 00	14000. 00	13000. 00
	75	15000. 00	22000. 00	20000. 00	18000. 00	20000. 00	10000. 00	12000. 00	24000. 00	22000. 00
K-S test	0.175	0.144	0.11	0.106	0.114	0.221	0.23	0.151	0.119	
Statističke mere										
P	0.000	0.000	0.005	0.010	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	
Srednji rank – Oralna terapija	49.42	52.02	53.35	50.84	51.99	51.2	47.8	51.98	47.82	
Srednji rank – IV terapija	52.49	50.04	44.73	46.16	44.09	42.71	46.18	41.91	45.18	
Z	-0.536	-0.342	-1.515	-0.83	-1.403	-1.533	-0.291	-1.806	-0.475	
Značajnost razlike	0.592	0.733	0.130	0.407	0.161	0.125	0.771	0.071	0.635	
Fridmanov test	Fridmanov test Statističke mere $\chi^2=147.068$, $p = 0.000$									

Statističke karakteristike utrošenih količina rHuEpo beta na mesečnom nivou u grupama različite nadoknade gvožđa (grupa per os FE i grupa IV FE) prikazane su u Tabeli 51 i grafički su prikazane u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 39), a vrednosti ovog parametra statistički se ne razlikuju značajno od normalne raspodele, jedino u prvom merenju.

Medijana utrošenih količina rHuEpo beta na mesečnom nivou na prvom merenju u grupi bolesnika na per os terapiji Fe (grupa Per os FE) iznosila je 6000 IU, 25 percentil 0 IU dok 75 percentil 12000 IU. U grupi bolesnika koji su bili na parenteralnoj supstituciji gvoždem (grupa IV FE) medijana utrošenih količina rHuEpo beta na mesečnom nivou iznosila je 6000 IU, 25 percentil 500 IU/kg, a 75 percentil 15000 IU.

Za poređenje utrošenog rHuEpo između dve terapijske grupe gvožđa, u okviru pojedinih merenja, primenjen je Mann-Whitney U test. U svih 9 meseci terapije raspodele vrednosti rHuEpo beta nisu bile statistički različite između dve terapijske grupe supstitucije Fe, 46 bolesnika u grupi Per os FE i 46 bolesnika u grupi IV FE imalo je vrednosti za svih 9 meseci. Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti u svih 9 merenja imale istu raspodelu. Zaključili smo da je raspodela vrednosti između pojedinih meseci bila statistički značajno različita (Fridmanov test $\chi^2=147.068$ p=0.000).



Grafikon 39. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika utrošenih količina rHuEpo beta na mesečnom nivou, između terapijskih grupa Fe

Zaključak. U svih 9 meseci terapije raspodele vrednosti utrošenog rHuEpo beta nisu bile statistički različite između dve terapijske grupe supstitucije Fe, iako su se mesečne doze rHuEpo razlikovale.

4.3.4. Ukupna mesečna doza eritropoetina beta (rHuEpo beta, IU) između dve grupe nosioca genotipova ACE I/D, grupa ACE II/DI i grupa ACE DD

Tabela 52. Ukupne mesečne doze rHuEpo beta između dve grupe nosioca ACE genotipa I/D grupa ACE II/DI i grupa ACE DD

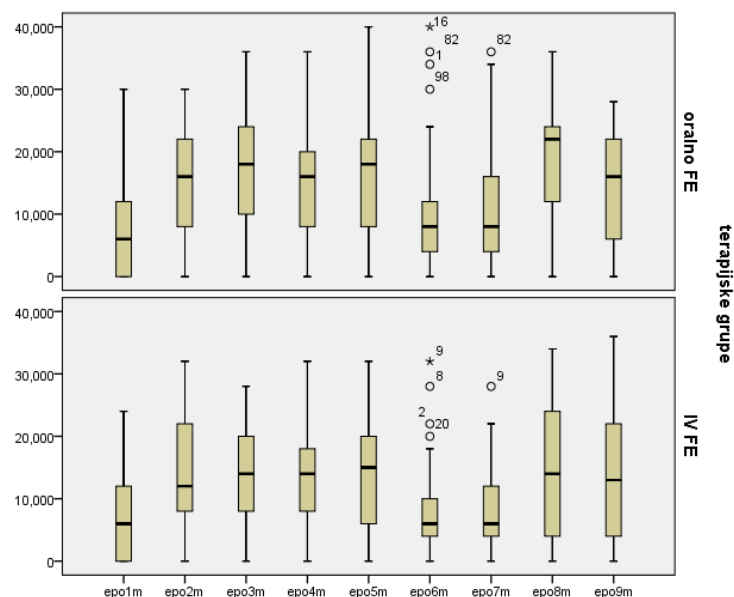
Grupa ACE II/DD										
Stat. mere	m	1	2	3	4	5	6	7	8	9
N		72	72	69	69	69	68	68	68	67
Missing		0	0	3	3	3	4	4	4	5
Mean		7388.89	13527.78	14637.68	14666.67	14521.74	9235.29	9323.53	15705.88	12686.57
Median		6000.00	12000.00	16000.00	16000.00	16000.00	8000.00	6000.00	16000.00	10000.00
SD		7258.91	8839.69	8370.06	9085.65	10114.94	8228.31	7907.00	9464.87	9208.38
Minimum		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Maximum		30000.00	32000.00	30000.00	36000.00	40000.00	40000.00	34000.00	34000.00	30000.00
Percentiles	25	0.00	8000.00	8000.00	8000.00	6000.00	4000.00	4000.00	8500.00	4000.00
	50	6000.00	12000.00	16000.00	16000.00	16000.00	8000.00	6000.00	16000.00	10000.00
	75	11500.00	21500.00	20000.00	20000.00	22000.00	11500.00	12000.00	24000.00	22000.00
Grupa ACE DD										
N		29	29	28	27	26	25	25	25	25
Missing		0	0	1	2	3	4	4	4	4
Mean		8344.83	15724.14	15714.29	14370.37	15000.00	9600.00	9920.00	19600.00	15440.00
Median		6000.00	18000.00	15000.00	16000.00	16000.00	8000.00	8000.00	24000.00	16000.00
SD		7838.90	8663.95	7920.24	6951.19	7552.48	9055.39	8376.16	11313.71	9652.63
Minimum		0.00	0.00	4000.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Maximum		24000.00	30000.00	36000.00	26000.00	28000.00	36000.00	36000.00	36000.00	36000.00
Percentiles	25	0.00	8000.00	9000.00	8000.00	7500.00	5000.00	6000.00	8000.00	6000.00
	50	6000.00	18000.00	15000.00	16000.00	16000.00	8000.00	8000.00	24000.00	16000.00
	75	15000.00	23000.00	20000.00	18000.00	20000.00	11000.00	12000.00	28000.00	23000.00
Shapiro-Wilk		0.873	0.953	0.977	0.959	0.954	0.829	0.857	0.951	0.931
P		0.000	0.002	0.100	0.005	0.003	0.000	0.000	0.002	0.003
Srednji rang –genotip ACE II/DD		50.22	48.78	48.75	48.20	47.70	47.11	45.99	44.04	44.79
Srednji rang –Genotip ACE DD		52.95	56.52	79.61	49.28	48.79	46.70	49.74	55.06	51.08
Z		-0.432	-1.208	-0.136	-0.172	-0.172	-0.066	-0.600	-1.754	-1.010
Značajnost razlike		0.666	0.227	0.892	0.863	0.863	0.948	0.549	0.079	0.312
Fridmanov test		Fridmanov test Statističke mere $\chi^2=147.068$ p = 0.000								

Ukupne mesečne doze rHuEpo beta između dve grupe nosioca ACE genotipova I/D, grupa ACE II/DI i grupa ACE DD prikazane su u Tabeli 52 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 40).

Vrednosti doze rHuEpo se značajno razlikuju od normalne raspodele tokom svih 9 meseci. Medijana ukupne mesečne doze rHuEpo beta u prvom mesecu u grupi ACE II/DD iznosila je 6000 IU, 25-percentil 0 i 75-percentil je imao vrednost 12000 IU. U grupi ACE DD medijana je iznosila 6000 IU rHuEpo, 25-percentil 0 i 75-percentil 15000 IU.

Za poređenje mesečnih doza rHuEpo između dve grupe ACE genotipa I/D u okviru pojedinog meseca, koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti mesečne doze rHuEpo beta ista u obe grupe ACE genotipa. U svim merenjima nismo imali razloga za odbacivanje nulte hipoteze, odnosno, raspodele vrednosti doze rHuEpo beta nisu bili statistički međusobno različite između grupa ACE I/D.

Uvidom u Tabelu 52 zaključujemo da u grupi ACE II/DD kod 67 bolesnika i u grupi ACE DD kod 25 bolesnika imamo vrednosti za svih 9 meseci terapije (bolesnici koji su završili studiju). Korišćenjem Fridmanove dvofaktorske analize varijanse sa rangovima testirali smo hipotezu da su vrednosti u svim merenjima imale istu raspodelu. Zaključili smo da je raspodela vrednosti između pojedinih merenja bila, statistički, značajno različita (Fridmanov test $\chi^2=147.068$, $p=0.000$).

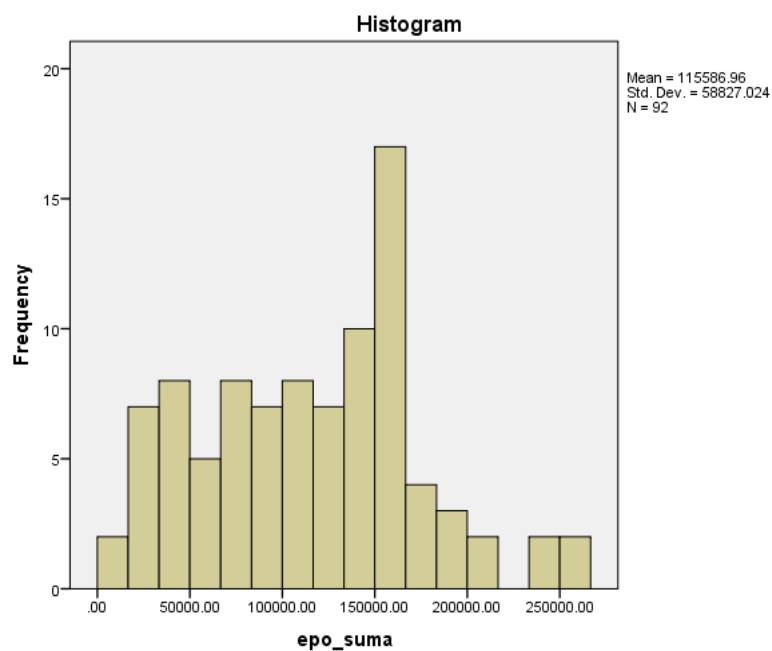


Grafikon 40. Pomena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika ukupne mesečne doze rHuEpo beta između grupe ACE II/DI i grupe ACE DD

Ukupna doza rHuEpo za devet meseci terapije dobijena je sabiranjem pojedinačnih mesečnih doza (Tabela 53). Na osnovu vrednosti Shapiro-Wilk testa=0.968 ($p=0.023$) zaključujemo da se raspodela ukupne doze EPO statistički značajno razlikuje od normalne.

Tabela 53. Ukupna devetomesečna doza rHuEpo beta

Statističke mere		Statistic
Mean		115586.957
Median		119000.000
SD		58827.024
Minimum		14000.000
Maximum		266000.000
Range		252000.000
Interquartile opseg		86500.000
Skewness		0.212
Kurtosis		-0.373
Percentil	25	69000.000
	50	119000.000
	75	155000.000
Shapiro-Wilk		0.968
P		0.023



Grafikon 41. Prikaz distribucije frekvencija ukupne devetomesečne doze rHuEpo beta kao histogram frekvencija

Za poređenje vrednosti ukupne doze rHuEpo između dve grupe ACE genotipa I/D i po pojedinim terapijskim grupama modaliteta Fe koristili smo Mann-Whitney U test. Testirali smo nultu hipotezu, da je distribucija vrednosti rHuEpo ista unakrsno u obe grupe ACE genotip I/D i terapijske grupe modaliteta Fe. Uvidom u Tabelu 54, konstatujemo da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji ukupne doze rHuEpo između ACE I/D genotipu u okviru pojedine terapijskih grupa Fe ($Z=-0.346$, $p=0.729$); ($Z=-0.876$, $p=0.387$), niti obrnuto u odnosu na različiti modalitet supstitucije Fe glukonata u različitim nosilaca ACE genotipa I/D ($Z=-1.262$, $p=0.207$); ($Z=-0.485$, $p=0.647$).

Tabela 54. Ukupna doze (količina utrošenog) rHuEpo beta kod bolesnika dve grupe ACE genotipova I/D (ACE II/DI i ACE DD) i po pojedinim terapijskim grupama nadoknade gvožđa (per os FE i IV FE)

				Značajnost razlike	
Terapija	Genotip ACE	N	Srednji rank	Z	p
Per os FE	II/D	32	23.05	-0.346	0.729
	DD	14	24.54		
IV FE	II/D	35	22.53	-0.876	0.387
	DD	11	28.59		
				Značajnost razlike	
Genotip	Terapija	N	Srednji rank	Z	p
ACE II/DD	Per os	32	37.14	-1.262	0.207
	IV	35	31.13		
ACE DD	Per os	14	13.61	-0.485	0.647
	IV	11	12.23		

4.3.5. Ukupna doza rHuEpo (IU) tokom 9 meseci u suzbijanju anemije kod 92 bolesnika koji su završili studiju

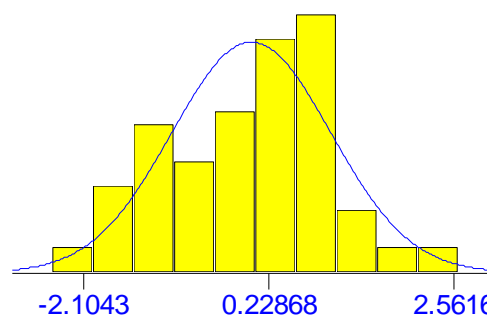
Statističke mere sume primenjenog rHuEpo (IU) za 9 meseci terapije u suzbijanju anemija kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi prikazane su u Tabeli 55 i na Grafikonima 42-44. Na osnovu rezultata Shapiro-Wilk testa zaključujemo da se distribucija ukupne primenjene doze rHuEpo tokom 9 meseci, statistički, značajno razlikuje od normalne raspodele.

Tabela 55. Statističke mere ukupne sume rHuEpo tokom 9 meseci terapije kod 92 bolesnika

Statistics		epo_suma	T_epo_suma
N	Valid	92	93
	Missing	9	8
Mean		115586.96	0.000000
Median		119000.00	0.111429
SD		58827.02	1.005479
Minimum		14000.00	-2.104288
Maximum		266000.00	2.561643
Percentiles	25	69000.00	-0.701961
	50	119000.00	0.111429
	75	155500.00	0.661991
Shapiro-Wilk		0.968	0.976
P		0.023	0.094

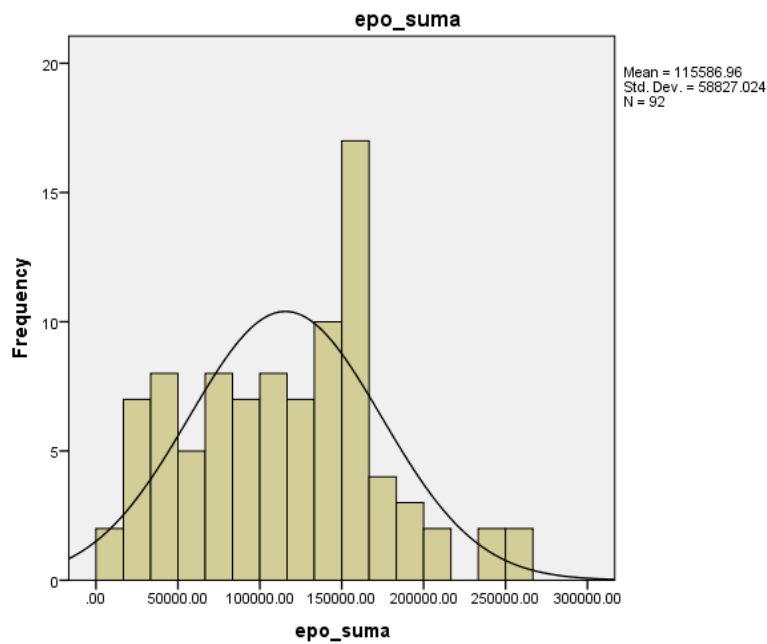
Transformation = $-\ln(12.8674833514468 - \ln((\text{IF}(X \leq 0.2000/4, X-0)))) - 0.218038331916257) / 0.466727177383527$

Sample Size = 92
 Average = $1.3536 \cdot 10^{-12}$
 Standard Deviation = 1.0055
 Skewness = 0.02
 Excess Kurtosis = -0.18
 Test of Fit: p-value = 0.9716
 (SK All) Decision = Pass
 (SK Spec) Decision = No specs



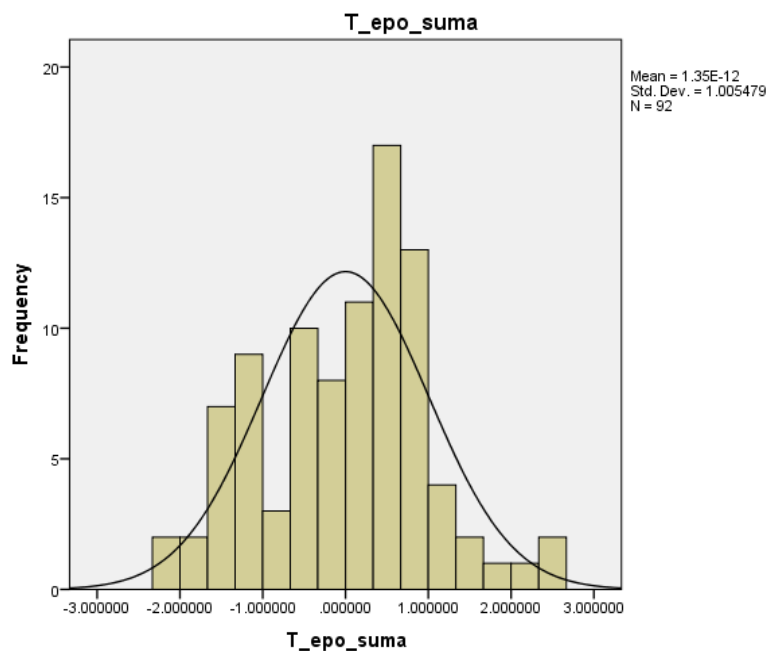
With 95% confidence more than 99% of the values are between -2.969 and 2.969

Grafikon 42. Statistička analiza i procena raspodele primenjene doze rHu eritropoetina beta kod bolesnika koji su završili istraživanje (n=92)



Grafikon 43. Doze primenjenog rHu eritropoetina beta kod bolesnika koji su završili studiju (n=92)

Primenom softverskog paketa engl. *distribution analyser* uspeli smo da originalne podatke transformišemo u normalnu raspodelu. Ispis rezultata dat je u nastavku. Transformacija je veoma složena, ali daje traženi rezultat.



Grafikon 44. Distribucija frekvencija doze rHuEpo kod 92 bolesnika koji su završili studiju

Tabela 56. Statističke mere distribucije rHu eritropoetina beta između terapijskih grupa Fe i grupa nosioca genotipa ACE I/D kod bolesnika koji su završili studiju (n=92)

Report						
T_epo_suma	Statističke mere					
Terapijske grupe	N	Mean	SD	Median	Minimum	Maximum
Oralno FE	46	0.136394	1.040064	0.353534	-2.016350	2.561643
IV FE	46	-0.136394	0.961602	0.050258	-2.104288	2.006720
Značajnost razlike	t-test=1.306, p=0.195					
T_epo_suma	Statističke mere					
ACE genotip	N	Mean	SD	Median	Minimum	Maximum
II,DI	67	-0.062705	1.044359	0.034921	-2.104288	2.561643
DD	25	0.168049	0.890816	0.308376	-2.016350	1.969945
Značajnost razlike	t-test= -0.979, p=0.330					

Rezultati primene dvofaktorske analize varijansnog količnika, transformisana varijabla T_epo_suma definisana je kao zavisna i tip terapije i ACE genotip kao faktori.

Tabela 57. Značajnost razlike ukupne devetomesečne doze rHu eritropoetina između terapijskih grupa Fe i nosioca genotipa ACE I/D

Source	F	P
Tip terapije GrTer	0.638	0.426
ACE genotip ID/DD	0.867	0.354
Tip terapije * ACE genotip ID/DD	0.405	0.526

Ne postoji statistički značajna razlika ukupne doze rHuEpo između nosioca pojedinog ACE I/D genotipa i modaliteta supstitucije Fe (F=0.405, p=0,526).

Zaključak. Ukupna doza rHuEpo koju su primali bolesnici tokom devet meseci praćenja nije se razlikovala između dve grupe bolesnika, prema načina davanja terapije gvoždem (grupe per os FE ili IV FE), niti je povezana sa I/D genotiom ACE, odnosno, prema udruženim subgrupama za oba kriterijuma – modalitet supstitucije Fe glukonata i prema ACE I/D genotipu.

4.4. KARDIOLOŠKI PARAMETRI EHOKARDIOGRAFSKOG PREGLEDA U DVE TERAPIJSKE GRUPE GVOŽĐA, NA POČETKU (PRVI MESEC) I NA KRAJU (DEVETI MESEC) ISPITIVANJA

Kardiološke karakteristike procenjivane su parametrima kvantitativne ehokardiografije: relativna debljina zida leve komore (RWT), e젝ciona frakcija leve komore (EF), stepen promene indeksa mase leve komore na površinu tela (LVMI) i geometrija relativne debljine leve komore (geometry RWT), u prvom i devetom mesecu.

4.4.1. Relativna debljina zida leve komore (engl. relative wall thickness, RWT cm) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta

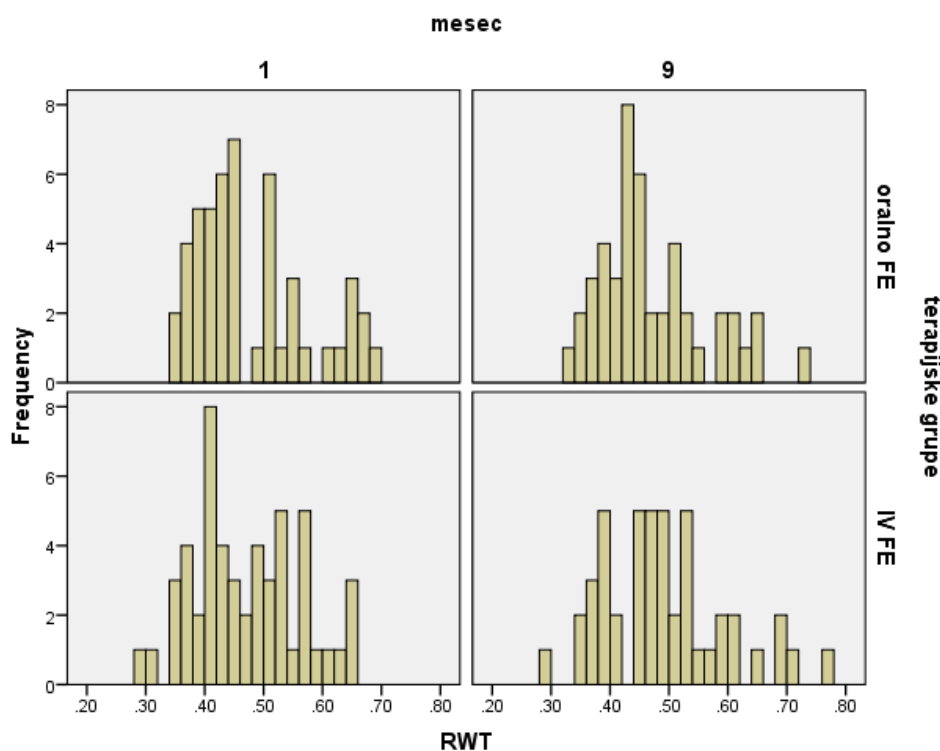
Relativna debljina zida leve komore srca je odnos endodijastolne debljine zadnjeg zida leve komore prema endodijastolnom unutrašnjem prečniku leve komore i normalno je <0.43 (0.45) cm.

Tabela 58. Analiza relativne debljine zida leve komore (RWT, cm) u prvom i 9om mesecu

Tip terapije Fe	Statističke mere		RWT1m cm	RWT9m cm	
Per os	N		49	46	
	Missing		0	3	
	Mean		0.47	0.47	
	Median		0.44	0.44	
	SD		0.10	0.09	
	Minimum		0.34	0.31	
	Maximum		0.68	0.73	
	Percentiles	25		0.40	0.41
		50		0.44	0.44
75			0.54	0.51	
IV	N		52	46	
	Missing		0	6	
	Mean		0.47	0.49	
	Median		0.45	0.48	
	SD		0.09	0.10	
	Minimum		0.29	0.29	
	Maximum		0.65	0.76	
	Percentiles	25		0.40	0.40
		50		0.45	0.48
75			0.53	0.53	
K-S test Statističke mere			0.138	0.104	
P			0.000	0.108	
Srednji rank – Oralna terapija			51.55	43.33	
Srednji rank – IV terapija			50.48	49.67	
Z			-0.184	-1.079	
Značajnost razlike			0.854	0.281	
Wilcoxon test vezanih uzoraka			Z= -0.748, p=0.455		

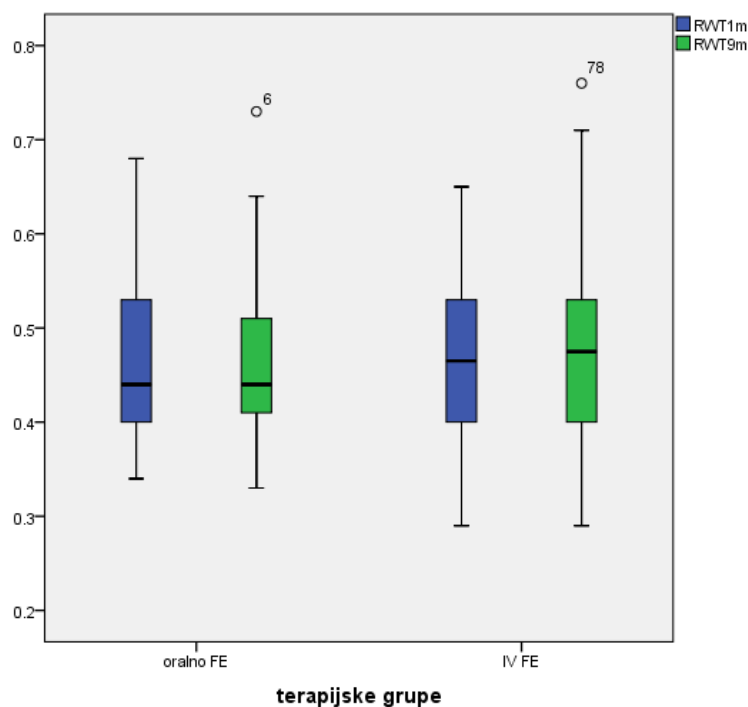
Statističke karakteristike relativne debljine zida leve komore (RWT) prikazane su u Tabeli 58 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikon 45). Vrednosti RWT statistički se značajno razlikuju od normalne raspodele u prvom i drugom merenju, odnosno u prvom i devetom mesecu. U grupi bolesnika na per os terapiji Fe (grupa Per os FE) medijana RWT u prvom i devetom mesecu studije iznosila je 0.44 cm. Na prvom merenju 25 percentil je iznosio 0.40, a na drugom 0.41, dok je 75 percentil na prvom merenju iznosio je 0.54, a na drugom 0.51. U drugoj grupi bolesnika na IV terapiji Fe (grupa IV FE) medijana RWT u prvom mesecu je iznosila 0.45 cm, u devetom mesecu 0.48 cm. U oba merenja 25 percentil je iznosio 0.40, a 75 percentil 0.53.

Poređenje vrednosti RWT između dve terapijske grupe Per os FE i IV FE u okviru pojedinog merenja, Mann-Whitney U testom, ukazuje da raspodele vrednosti RWT nisu bile statistički međusobno različite.



Grafikon 45. Prikaz distribucije frekvencija relativne debljine zida leve komore (RWT, cm) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Per os FE i IV FE), u prvom i 9om mesecu

Za poređenje razlike nastale između dva merenja na nivou svih bolesnika koristili smo Wilcoxonov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana razlike između dva merenja jednaka nuli. Rezultat $p=0.455$ ukazuje da medijana razlike vrednosti RWT nije statistički značajno različita od nule. Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe.



Grafikon 46. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika relativne debljina zida leve komore (RWT, cm) u dve terapijske grupe gvožđa (Per os FE i IV FE)

Zaključak. RWT se nije značajno razlikovao između grupa Fe i nije se menjao posle 9 meseci terapije (Grafikon 46).

4.4.2. Ejekciona frakcija leve komore (EF, %) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta

Karakteristike ejekcione frakcije leve komore (EF, %) prikazane su u Tabeli 59 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikoni 47 i 48). Vrednosti EF leve komore statistički značajno se razlikuju od normalne raspodele u prvom i devetom mesecu.

Tabela 59. Statistička analiza EF leve komore u prvom i 9om mesecu ispitivanja kod bolesnika dve terapijske grupe na supstituciji gvožđa

Tip terapije	Statističke mere		EF1m %	EF9m %	
Per os	N		49	46	
	Missing		0	3	
	Mean		55.08	53.78	
	Median		60	55	
	SD		10.11	8.80	
	Minimum		25	27	
	Maximum		68	65	
	Percentiles		25	50	50
			50	60	55
			75	65	60
IV	N		52	46	
	Missing		0	6	
	Mean		55.21	54.91	
	Median		55	55	
	SD		8.46	7.85	
	Minimum		36	30	
	Maximum		68	68	
	Percentiles		25	50	50
			50	55	55
			75	60	60
K-S test Statističke mere			0.195	0.214	
P			0.000	0.000	
Srednji rank – Oralna terapija			51.55	45.42	
Srednji rank – IV terapija			50.04	47.58	
Z			-0.345	-0.396	
Značajnost razlike			0.730	0.692	
Wilcoxon test vezanih uzoraka		Z= -2.326 p=0.020			

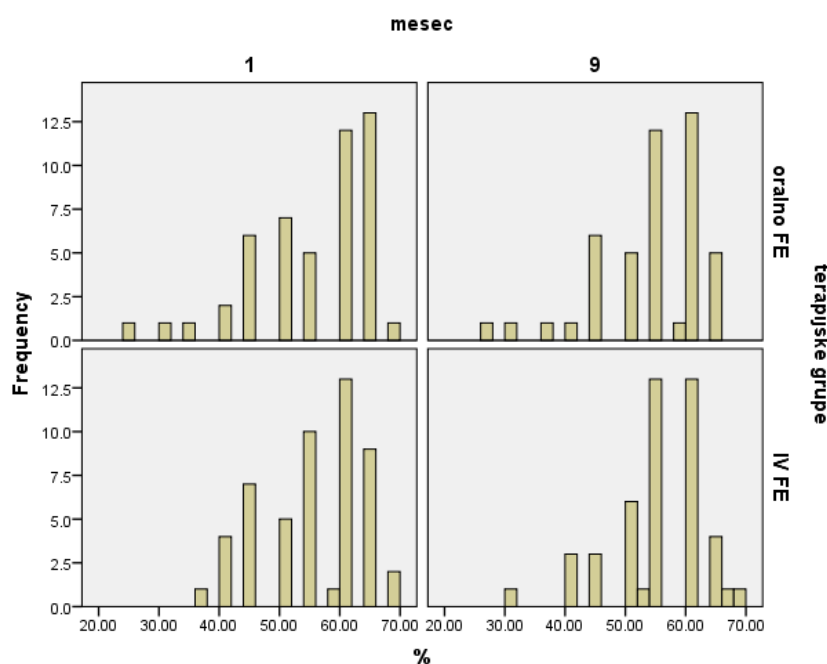
U grupi bolesnika na per os terapiji Fe (grupa per os FE) medijana EF leve komore na prvom merenju iznosila je 60%, dok u devetom mesecu iznosila 55%. Na prvom i na drugom merenju 25 percentil je iznosio 50.00%, dok je 75 percentil na prvom merenju iznosio 65.00%, a na drugom 60.00%.

U drugoj grupi bolesnika koji su dobijali parenteralno gvožđe glukonat (grupa IV FE), medijana EF leve komore u prvom i 9om mesecu iznosila je 55.00%. U oba merenja 25 percentil je iznosio 50.00%, a 75 percentil 60.00%.

Za poređenje razlike nastale između dva merenja na nivou svih bolesnika koristili smo Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana razlike između dva merenja jednaka nuli. Rezultat $p=0.020$ ukazuje da je medijana razlike, izražene u % EF leve komore statistički značajno različita od nule. Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe, ukupno 92.

Rangirali smo razlike EF leve komore u 9om mesecu prema EF leve komore u 1om mesecu, koje su bile različite od nule, po apsolutnoj vrednosti, tako da je najmanju razliku imao rang 1. U ukupnom uzorku od 92 bolesnika suma negativnih rangova razlika EF9m – EF1m (527.50) bila je značajno veća od sume pozitivnih rangova. Kod 54 bolesnika nije bilo promene, kod 26 bolesnika srednji rang je 20.29 i suma 537.50, a kod 12 bolesnika srednji rang je 17.79 i suma rangova je bila 213.50 (Tabela 60).

Zaključili smo da je kod 54 bolesnika stanje bilo nepromenjeno između dva merenja, kod 12 je nastalo poboljšanje a kod 26 pogoršanje, razlika je statistički značajna ($p=0.020$).



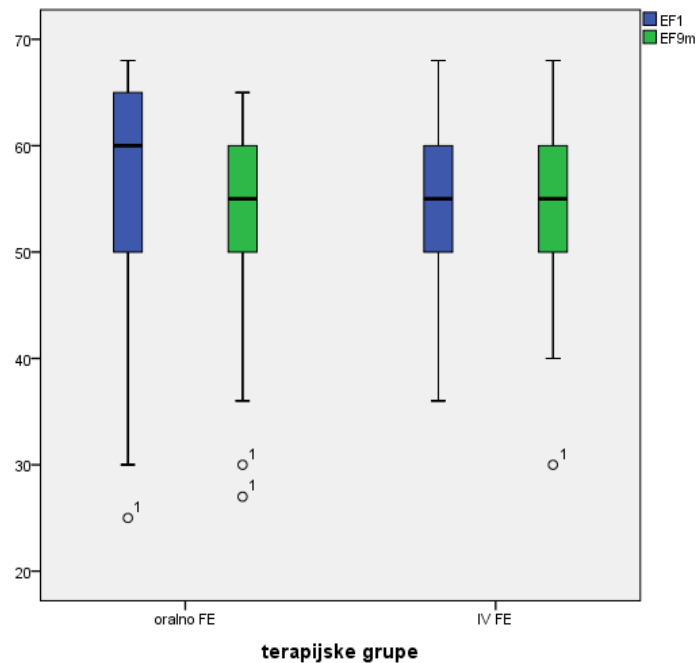
Grafikon 47. Prikaz distribucije frekvencija vrednosti ejectiveske frakcije leve komore (EF%) u dve terapijske grupe gvožđa (Per os FE i IV FE), u prvom i 9om mesecu

Za poređenje razlike nastale između dva merenja, na nivou svih bolesnika, koristili smo Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana razlike između dva merenja jednaka nuli. Na nivou svih bolesnika nastalo je statistički značajno smanjenje vrednosti EF ($Z=-2.326$, $p=0.020$). Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe, ukupno 92 bolesnika.

U grupi na peroralnoj terapiji supstitucije Fe (Per os FE) između prvog i drugog merenja došlo je do statistički značajnog smanjenja vrednosti EF kod 16 bolesnika, EF se povećala kod 6, a kod 24 bolesnika nije bilo promena vrednosti EF leve komore. Zaključeno je da je nastala ststistički značajna promena EF u grupi Per os FE

($Z=-2.005$, $p =0.045$).

U drugoj grupi na IV terapiji Fe, kod 30 od 46 bolesnika nije bilo promene u vrednosti EF, kod 6 bolesnika došlo je do povećanja vrednosti EF i kod 10 bolesnika se EF leve komore smanjila u 9-om mesecu studije. U grupi IV FE nije bilo statistički značajne promene vrednosti EF leve komore između prvog i drugog merenja (prvog i devetog meseca), ($Z=-1.188$ $p=0.235$).



Grafikon 48. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika ejeckione frakcije leve komore (EF%) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa

(Per os FE i IV FE)

Tabela 60. Rang razlike EF leve komore u 9om mesecu prema EF leve komore u 1om mesecu

Ranks				
		N	Mean Rank	Sum of Ranks
EF9m - EF1m %	Negative Ranks	28 ^a	20.29	527.50
	Positive Ranks	12 ^b	17.79	213.50
	Ties	54 ^c		
	Total	92		
a. EF9m < EF1m %				
b. EF9m > EF1m %				
c. EF9m = EF1m %				

Test Statistics ^a	
	EF9m - EF1m %
Z	-2.326 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
a. Wilcoxon Signed Ranks Test	
b. Based on positive ranks.	

Zaključak.

EF leve komore je bila nepromenjena posle 9 meseci IV terapije Fe, a opada na peroralnom Fe.

Kod 57.61% od ukupno 92 bolesnika EF leve komore se nije menjala, kod 13,04% se EF leve komore povećala i kod 29.34% se smanjila ($p=0.017$).

U grupi na peroralnoj terapiji supstitucije Fe (per os FE) od 46 bolesnika, posle 9 meseci terapije kod polovine (52.17%) stanje je nepromenjeno, kod 13.05% se povećala i kod 34,78% se EF smanjila ($Z=-2.075$ $p=0.038$).

U grupi na IV terapiji Fe (IV FE) kod 65.21% nije bilo promene u EF, kod 13.05% EF se povećala i kod 21.74% EF se smanjuje u 9-om mesecu studije ($Z=-1.188$ $p=0.235$).

4.4.3. Promena indeksa mase leve komore na jedinicu površine tela (Severity LVMASS index/body surface area, LVMi, gr/m²) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta

Indeks mase leve komore na jedinicu površine tela (LVMi, Severity LVMASS index/body surface area, gr/m²) je stepenovan od normalnog do različitog stepena poremaćaja, označenih kao blaga abnormalnost, umerena abnormalnost ili teška abnormalnost, detaljno objašnjeno u odeljku Metode istraživanja.

Na početku ispitivanja dve terapijske grupe supstitucije Fe bile su ujednačene ($\chi^2=4.566$, $p=0.207$) u odnosu na kategorije LVMi (Tabela 61).

Tabela 61. Distribucija frekvencije stepena indeksa mase leve komore (LVMi) u prvom mesecu

LVMi1m	Terapijske grupe		Total
	Per os FE	IV FE	
0 normalan - u referentnom rasponu	16	19	35
1 blaga abnormalnost	9	8	17
2 umerena abnormalnost	4	11	15
3 teška abnormalnost	20	14	34
Total	49	52	101
Značajnost	$\chi^2=4.566$ $p= 0.207$		

Studiju je završilo 92 bolesnika i u analizu promena koje su nastale u kategorijama LVMi obuhvaćeno je po 46 bolesnika, iz dve terapijske grupe supstitucije gvožđa. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMi, na početku i na kraju devetomesečnog praćenja u odnosu na modalitet terapije Fe, prikazan je u Tabeli 62 i na Grafikonima 49 i 50. Promene u pripadništvu kategorijama između prvog i devetog meseca u grupi bolesnika na peroralnoj terapiji Fe su pokazale da je od 16 bolesnika sa normalnom LVMi 8 ostalo u istoj kategoriji, 6 je prešlo u kategoriju blaga abnormalnost i 2 u umerenu abnormalnost. U kategoriji teške abnormalnosti bilo je 17 bolesnika na početku ispitivanja, od kojih je 11 bolesnika ostalo u teškoj kategoriji, 3 je prešlo u umerenu, 2 u blagu i jedan bolesnik je prešao u normalnu kategoriju.

Za ispitivanje značajnosti promena u kategorijama između prvog i devetog meseca, po bolesniku, koristili smo test granične homogenosti (Marginal homogeneity test). Nulta

hipoteza pretpostavlja da je pripadništvo kategorijama u oba merenja podjednako verovatno.

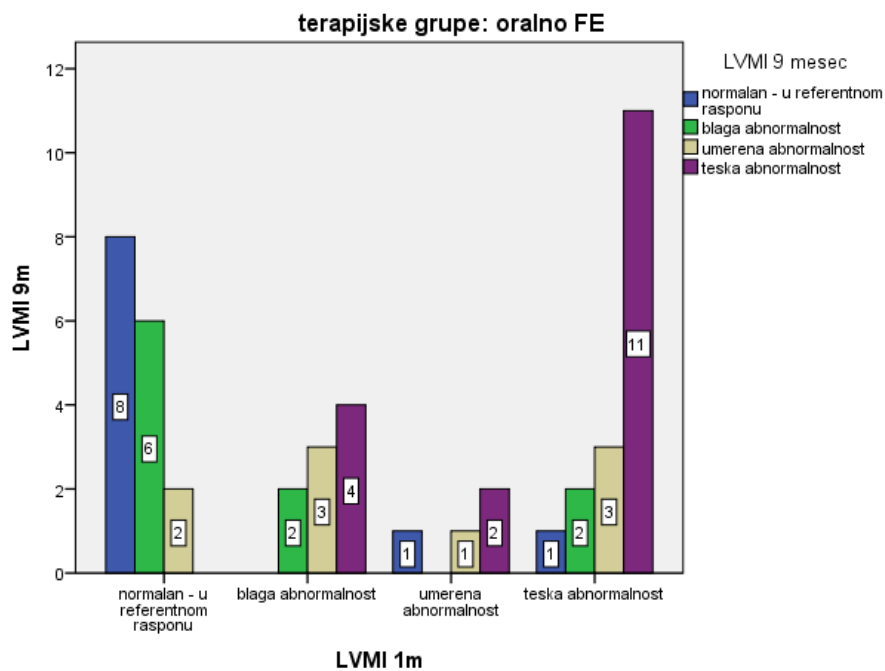
Tabela 62. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMI u prvom i 9om mesecu po grupama supstitucije gvožđa (Per os FE i IV FE)

Terapija	LVMI Prvi mesec ↓	Odnos mase leve komore i površine tela Deveti mesec				Ukupno
		Normalan	Blaga abnorm.	Umerena	teška	
Per os	Normalan	8	6	2	0	16
	Blaga abnormalnost	0	2	3	4	9
	Umerena	1	0	1	2	4
	Teška	1	2	3	11	17
	Ukupno	10	10	9	17	46
Značajnost	Standardizovana test statistika = -1.432 p=0.152					
IV	Normalan	10	5	0	2	17
	Blaga abnormalnost	1	3	2	2	8
	Umerena	0	1	2	6	9
	Teška	0	0	1	11	12
	Ukupno	11	9	5	21	46
Značajnost	Standardizovana test statistika = -3.086 p=0.002					
Ukupno	Normalan	18	11	2	2	33
	Blaga an.	1	5	5	6	17
	Umerena	1	1	3	8	13
	Teška	1	2	4	22	29
	Ukupno	21	19	14	38	92
Značajnost	Standardizovana test statistika = -3.085 p=0.002					

U grupi IV FE na početku ispitivanja bilo je 17 bolesnika u kategoriji normalna, a na kraju samo njih 10. U kategoriji teška abnormalnost, na početku istraživanja bilo je 12 bolesnika, na kraju istraživanja taj broj se skoro udvostručio na 21 bolesnik. U kategoriji blaga abnormalnost na početku je bilo 8, a na kraju 9 bolesnika, broj bolesnika u umerenoj kategoriji sa smanjio od 9 na 5, na kraju istraživanja.

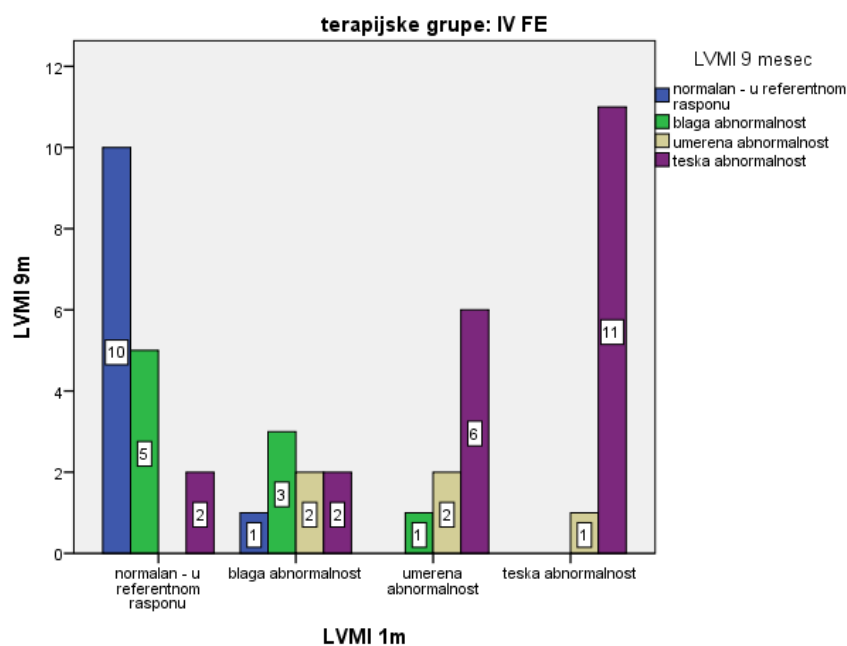
Promene u kategorijama LVMI od prvog do devetog meseca kod bolesnika na per os terapiji Fe nisu bile statistički značajne (p=0.152), dok su u grupi bolesnika na IV terapiji Fe promene bile statistički značajne (p=0.002) u prilog pogoršanja LVMI.

Na nivou svih bolesnika koji su imali oba merenja Standardizovana test statistika jednaka je -2.970 sa verovatnoćom $p=0.002$, odbacujemo nultu hipotezu, promena pripadništva kategorijama nije podjednako verovatna. Naime, došlo je da statistički značajnog pogoršanja, na početku 33 bolesnika je pripadalo kategoriji normalan LVMI, a na kraju u ovoj kategoriji ostalo je njih 21. U kategoriji teška abnormalnost LVMI, na početku je bilo 29 bolesnika, a na kraju ispitivanja u ovoj kategoriji su ostala 22 bolesnika.



Grafikon 49. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMI, na početku i na kraju 9og meseca, u gupi na supstituciji peroralnim gvoždem

(Per os FE)



Grafikon 50. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMI, na početku i na kraju 9og meseca, u gupi na supstituciji intravenskim gvoždem (IV FE)

Zaključak. Promene u kategorijama LVMI od prvog do devetog meseca kod bolesnika na per os terapiji Fe nisu bile statistički značajne ($p=0.152$), dok su u grupi bolesnika na IV terapiji Fe promene bile statistički značajne ($p=0.002$) u prilog pogoršanja LVMI.

U grupi 46 bolesnika IV FE na početku ispitivanja bilo je 34.78% bolesnika u kategoriji normalan, a 21.74% u devetom mesecu. U kategoriji teška abnormalnost, na početku istraživanje bilo je 26.09% bolesnika, na kraju istraživanja taj broj se skoro udvostručio na 45.65%.

U grupi 46 bolesnika Per os Fe od 16 bolesnika sa normalnim nalazom 50% ima normalan LVMI posle 9 meseci, i po jedan iz svake kategorije abnormalnosti na početku. U grupi IV FE 10 od 17 (58.82%) sa početnim normalnim LVMI ostaje normalan i samo 1 bolesnik iz grupe blage abnormalnosti LVMI.

Napomena. Masa leve komore (LVM) kod bolesnika na hroničnoj dijalizi individualizuje se odnosom sa površinom tela, kada se dobija indeks LVMI i izražava se gr/m^2 . Hipertrofija leve komore definiše se kada je $\text{LVMI} \geq 131 \text{gr/m}^2$ kod muškaraca i $\text{LVMI} \geq 100 \text{gr/m}^2$ kod žena, prema Framinghamskim kriterijumima (250).

4.4.4. Geometrija relativne debljine leve komore (Geometry RWT) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta

Geometrija RWT definisana je u okviru četiri kategorije uzlaznog stepenovanja lezije srca: normalna geometrija, koncentrično remodelovanje, koncentrična hipertrofija i ekscentrična hipertrofija, a distribucija bolesnika na početku i na kraju ispitivanja po grupama terapije Fe predstavljena je u Tabeli 63. U obe grupe, Per os FE i IV FE bilo je po 46 bolesnika koji su imali vrednosti na početku i na kraju merenja, ukupno 92. Promene u pripadnosti kategorijama kod pojedinih bolesnika dogodile su se između prvog i devetog meseca.

Tabela 63. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama geometrije RWT u prvom i 9om mesecu, po grupama supstitucije gvožđa (Per os FE i IV FE)

Terapija	Geometrija RWT Prvi mesec ↓	Geometrija RWT Deveti mesec				Ukupno
		0	1	2	3	
Per os	0	3	1	1	1	6
	1	2	3	4	2	11
	2	0	1	11	5	17
	3	0	0	4	8	12
	Ukupno	5	5	20	16	46
Standardizovana test statistika = -1.947 p=0.052						
IV	0	4	3	0	2	9
	1	0	3	4	0	7
	2	1	0	16	0	17
	3	0	0	5	8	13
	Ukupno	5	6	25	10	46
Standardizovana test statistika = -1.029 p=0.303						
Ukupno	0	7	4	1	3	15
	1	2	6	8	2	18
	2	1	1	27	5	34
	3	0	0	9	16	25
	Ukupno	10	11	45	26	92
Značajnost	Standardizovana test statistika = -2.121, p=0.034					
Legenda	0 normalna geometrija 2 koncentrična hipertrofija 1 koncentrično remodelovanje 3 ekscentrična hipertrofija					

U grupi 46 bolesnika na per os terapiji Fe normalne vrednosti geometrije srca na početku studije imalo je 6 bolesnika, od kojih je polovina ostala sa teškim promenama, a po jedan bolesnik je prešao u ostale tri kategorije. U kategoriji ekscentrična hipertrofija bilo je 12 bolesnika na početku ispitivanja, od kojih je 8 ostalo u teškoj kategoriji, 4 je prešlo u koncentričnu hipertrofiju (33.3%).

U grupi 46 bolesnika na IV terapiji Fe : Na početku studije normalnu geometriju srca imalo je 9 od 46 bolesnika na IV terapiji Fe i 44.44% ostaje sa normalnim nalazom, dok 22.2% prelazi u ekscentričnu hipertrofiju i 33.4% u koncentrično remodelovanje prema proceni posle 9 meseci. U kategoriji ekscentrična hipertrofija bilo je 13 bolesnika na početku ispitivanja, od kojih je 61.53% ostalo u teškoj kategoriji, a 38.46% se poboljšalo i prešlo u kategoriju koncentrične hipertrofije.

Za ispitivanje značajnosti promena u kategorijama između prvog i devetog meseca, po pojedinim ispitanicima, koristili smo test granične homogenosti (Marginal homogeneity test). Nulta hipoteza da je pripadništvo kategorijama u oba merenja podjednako verovatno na nivou svih 92 bolesnika koji su imali oba merenja nije odbačena, standardizovana test statistika iznosi -2.121 sa verovatnoćom $p=0.034$. To znači da promene u geometriji srca RWT, koje su se desile prelaskom u drugu kategoriju, nisu bile podjednako verovatne.

Od 17 bolesnika sa koncentričnom hipertrofijom srca na početku studije, posle 9 meseci terapije IV Fe 16 (94.11%) bolesnika ima sličan nalaz. Kod drugih 17 bolesnika sa koncentričnom hipertrofijom srca na početku studije, posle 9 meseci terapije peroralnim Fe, 11 (64.70%) bolesnika ima istu kategoriju geometrije srca, a ekscentričnu hipertrofiju 5 (29.41) bolesnika (pogoršanje geometrije srca)

Zaključak. Promene koje su se desile u geometriji srca RWT posle 9 meseci terapije nisu podjednako verovatne za bolesnike na supstituciji Fe (oralni Fe glukonat ili IV Fe glukonat) u lečenju anemije eritropoetinom beta na hemodijalizi, na osnovu prelaska u drugu kategoriju geometrije RWT ($p=0.034$). Manji relativni broj poboljšanja geometrije srca je kod teških bolesnika na peroralnom Fe (33.3%), nego na IV Fe 38.46% i manji relativni broj bolesnika zadržava normalan nalaz na peroralnom Fe 44.4%, nego na IV Fe (50%). Koncentričnu hipertrofiju zadržava 94.11% bolesnika na IV Fe, a samo 64.70% bolesnika na peroralnom Fe.

Napomena. Kategorizacija geometrije srca je na osnovu odnosa LVMI i RWT

- normalna geometrija leve komore (RWT ≤ 0.42 i LVMI ≤ 95 žene, LVMI ≤ 115 muškarci)
- koncentrično remodelovanje (RWT >0.42 i LVMI ≤ 95 žene, LVMI ≤ 115 muškarci)
- koncentrična hipertrofija (RWT > 0.42 i LVMI >95 žene, LVMI >115 muškarci)
- ekcentrična hipertrofija (RWT ≤ 0.42 i LVMI >95 žene, LVMI > 115 muškarci) (243-245).

Related-Samples Marginal Homogeneity Test

remodelovanje	geomRWT9m			
	0	1	2	3
normalna geometrija	Observed Frequency =7			
koncentricno remodelovanje		Observed Frequency =6		
koncentricna hipertrofija			Observed Frequency =27	
ekcentricna hipertrofija				Observed Frequency =16

Total N	92
Test Statistic	53.000
Standard Error	4.243
Standardized Test Statistic	-2.121
Asymptotic Sig. (2-sided test)	.034

4.5. KARDIOLOŠKI PARAMETRI EHOKARDIOGRAFSKOG PREGLEDA U DVE GRUPE ACE GENOTIPA I/D, NA POČETKU (1. MESEC) I NA KRAJU (9. MESEC) ISPITIVANJA

Tabela 64. Struktura bolesnika u odnosu na prisustvo glavnih neželjenih kardioloških događaja (MACE), kranijalnih i perifernih vaskularnih događaja u grupama genotipa ACE I/D

MACE Varijable		ACE genotip		Značajnost
		II, DI (n = 49)	DD (n=52)	
Stemi	Nema stemi IM	66 (71,7%)	26 (28,10%)	NSZ
	Ima stemi IM	6 (66,7%)	3 (33,3%)	
Nonstemi	Nema	69 (70,4%)	29 (29,6%)	NSZ
	Ima	3 (100,0%)	0 (0,0%)	
Angina pectoris	Nema	41(69,5%)	18 (30,5%)	$\chi^2=0,223$ p = 0,636
	Ima	31 (73,8%)	11(26,2%)	
Atrijalna fibrilacija	Nema apsolutu	63(71,6%)	25(28,4%)	NSZ
	Ima apsolutu	9(69,2%)	4(30,8%)	
Baypass Koronarnih arterija	Nema	69 (70,4%)	28 (28,9%)	NSZ
	Ima	3 (75,0%)	1 (25,00%)	
Stent koronarne arterije	Nema	69 (71,9%)	27 (28,1%)	NSZ
	Ima	3 (60,0%)	2 (40,00%)	
Srčana insuficijencija	Nema	55(70,5%)	23(29,5%)	$\chi^2=1,000$ p = 0,751
	Ima	17(73,9%)	6(26,1%)	
Kranijalna vaskularna hemoragija	Nema	68/71,6%)	27(28,4%)	NSZ
	Ima	4(66,7%)	2(33,3%)	
Periferna vaskularna bolest	Nema	58(75,3%)	19(24,7%)	$\chi^2=3,041$ p = 0,081
	Ima	13(56,5%)	10(43,5%)	

Kardiološke karakteristike procenjivane su parametrima kvantitativne ehokardiografije: relativna debljina zida leve komore (RWT), ejeckiona frakcija leve komore (EF), stepen promene indeksa mase leve komore na površinu tela (LVMi) i geometrija relativne debljine leve komore (geometry RWT), u prvom i devetom mesecu.

4.5.1. Relativna debljina zida leve komore (engl. relative wall thickness, RWT cm) između dve grupe nosioca genotipa ACE I/D, grupa ACE II,DI i grupa ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta

Relativna debljina zida leve komore je odnos endodijastolne debljine zadnjeg zida leve komore prema endodijastolnom unutrašnjem prečniku leve komore i normalno je <0.43 (0.45).

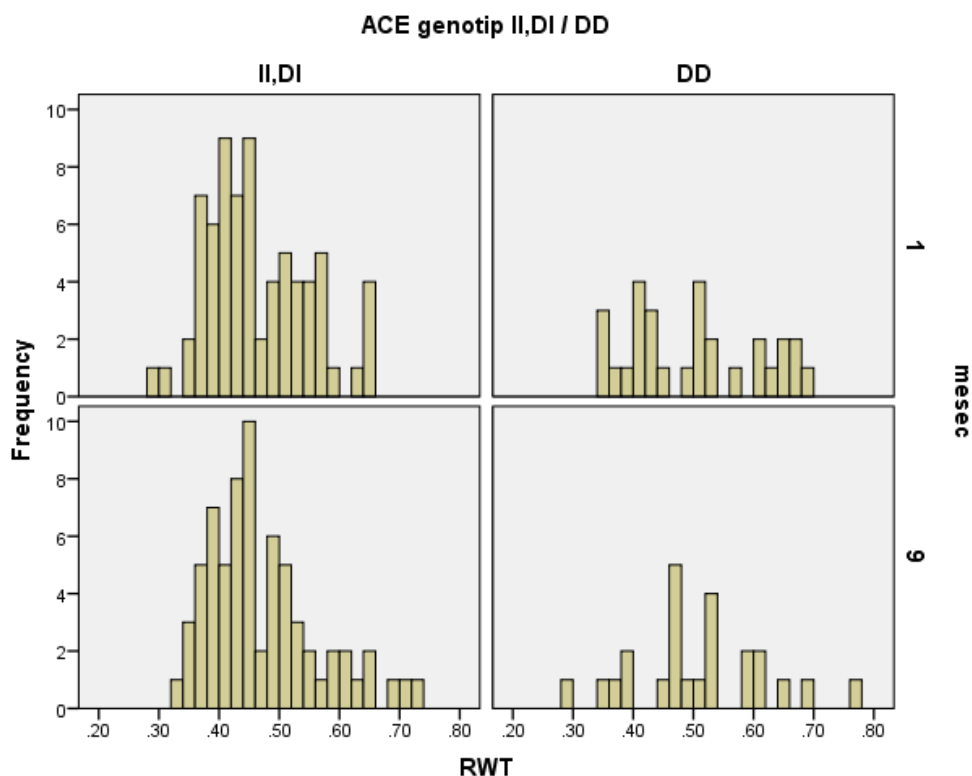
Tabela 65. Analiza relativne debljine zida leve komore (RWT, cm) kod nosioca ACE genotipa II,ID i ACE genotipa DD, u prvom i 9om mesecu

ACE genotip	Statističke mere		RWT1m cm	RWT9m	
II, DI	N		72	67	
	Missing		0	5	
	Mean		0.459	0.471	
	Median		0.440	0.450	
	SD		0.085	0.098	
	Minimum		0.290	0.290	
	Maximum		0.650	0.760	
	Percentiles	25		0.400	0.400
		50		0.440	0.450
75			0.520	0.510	
DD	N		29	25	
	Missing		0	4	
	Mean		0.496	0.493	
	Median		0.500	0.470	
	SD		0.109	0.097	
	Minimum		0.340	0.350	
	Maximum		0.680	0.650	
	Percentiles	25		0.400	0.415
		50		0.500	0.470
75			0.605	0.595	
K-S test Statističke mere			0.138	0.108	
P			0.000	0.011	
Srednji rank – ACE genotip II, DI			48.56	44.71	
Srednji rank – DD			57.07	51.30	
Z			-1.323	-1.054	
Značajnost razlike			0.186	0.292	
Wilcoxon test vezanih uzoraka			Z= -0.748 p=0.455		

Statističke karakteristike parametra relativna debljina zida leve komore (RWT) prikazane su u Tabeli 65 i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikoni 51,52). Vrednosti RWT statistički se značajno razlikuju od normalne raspodele u prvom i devetom mesecu. U grupi bolesnika ACE genotipa II,DI medijana RWT u prvom mesecu iznosila je 0.459 cm, a 9om mesecu 0.471 cm. Na prvom i na drugom merenju 25 percentil iznosio je 0.400 cm, dok 75 percentil na prvom merenju je iznosio 0.520 cm i na drugom 0.510 cm.

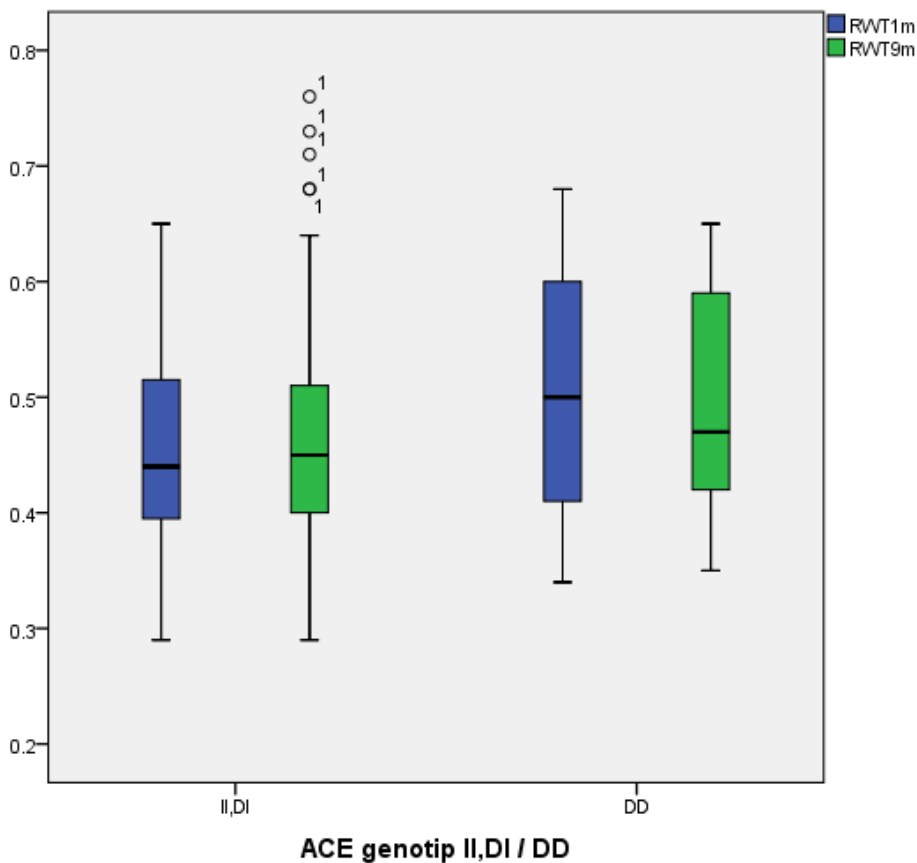
U drugoj grupi sa ACE genotipom DD medijana RWT u prvom mesecu iznosila je 0.500 cm, a u 9om mesecu 0.470 cm. U prvom merenju 25 percentil je iznosio 0.400 cm, a u drugom 0.415 cm, dok je 75 percentil na prvom merenju iznosio 0.605 cm i na drugom 0.595 cm.

Za poređenje RWT bolesnika između dve grupe ACE genotipa, u okviru pojedinih merenja, primenili smo Mann-Whitney U test. U oba merenja raspodele vrednosti RWT statistički međusobno nisu bile različite.



Grafikon 51. Distribucije frekvencija vrednosti relativne debljine zida leve komore (RWT, cm) u dve grupe ACE genotipa ACE II, DI i ACE DD, u prvom i 9om mesecu

Za poređenje razlike nastale između dva merenja, na nivou svih bolesnika, koristili smo Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana razlike između dva merenja jednaka nuli. Rezultat $p=0.455$ ukazuje da medijana razlike vrednosti RWT nije statistički značajno različita od nule. Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika iz grupe ACE II, DI i 25 bolesnika iz grupe ACE DD, ukupno 92 bolesnika.



Grafikon 52. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika relativne debljina zida leve komore (RWT, cm) dve grupe ACE genotipa (ACE II,DI i ACE DD)

Zaključak. Nije bilo promene RWT posle 9 meseci terapije u grupama nosioca ACE genotipa I/D.

Napomena: medijana RWT se blago snižavala u ACE genotipu DD, a povećavala u grupi ACE II,DI.

4.5.2. Ejekciona frakcija leve komore (EF, %) između grupe ACE II,DI i grupa ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci

Statističke karakteristike ejekciona frakcija leve komore (EF) prikazane su u Tabeli 66. i grafički u obliku *box-plot* grafikona (Grafikoni 53,54). Vrednosti ejekcione frakcije leve komore, statistički, značajno se razlikuju od normalne raspodele u prvom i 9om mesecu.

Tabela 66. Statistička analiza EF leve komore kod nosioca ACE genotipa II, DI i DD, u prvom i 9om mesecu

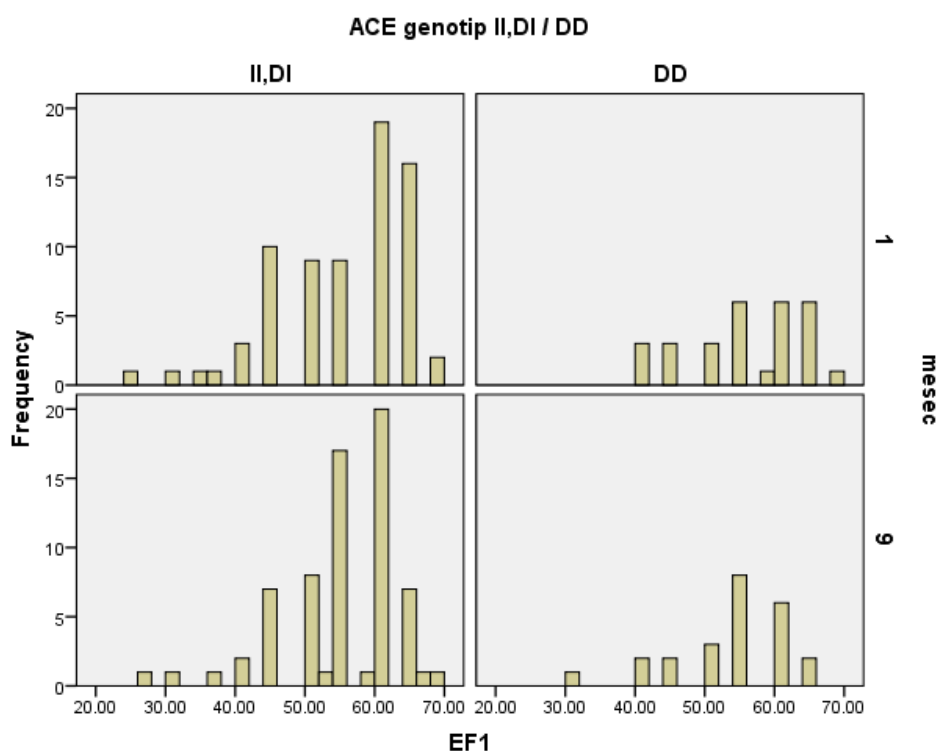
ACE genotip	Statističke mere		EF1m %	EF9m %
II, DI	N		72	67
	Missing		0	5
	Mean		54.986	53.433
	Median		60.000	55.000
	SD		9.628	8.842
	Minimum		25.000	27.000
	Maximum		68.000	66.000
	Percentiles	25	50.000	50.000
		50	60.000	55.000
		75	63.750	60.000
DD	N		29	25
	Missing		0	4
	Mean		55.552	56.920
	Median		55.000	60.000
	SD		8.386	6.130
	Minimum		40.000	40.000
	Maximum		68.000	68.000
	Percentiles	25	50.000	55.000
		50	55.000	60.000
		75	62.500	60.000
K-S test Statističke mere			0.195	0.216
P			0.000	0.000
Srednji rank – Oralna terapija			51.03	43.71
Srednji rank – IV terapija			50.93	53.98
Z			-0.015	-1.680
Značajnost razlike			0.988	0.093
Wilcoxon test vezanih uzoraka			Z= -2.326 p=0.020	

U grupi bolesnika ACE genotipa II, DI medijana leve komore u prvom mesecu iznosila je 60.00% i u 9om mesecu 55.00%. Na prvom merenju 25 percentil je iznosio 50.00% koliko i na drugom, dok 75 percentil na prvom merenju je iznosio 63.75%, a na drugom 60.00%. U drugoj grupi bolesnika ACE genotipa DD, mediana EFLK na prvom merenju iznosila je 55.00%, a na drugom 60.00%. U prvom merenju 25 percentil je iznosio 50.00%, a 75 percentil 62.500%, dok na drugom merenju 25 percentil je iznosio 55.00%, a 75 percenti 60.00%.

Za poređenje razlike nastale između dva merenja, na nivou svih bolesnika, koristili smo Wilcoxon-ov test ekvivalentnih parova, odnosno, testirali smo da li je medijana razlike između dva merenja jednaka nuli. Rezultat $p=0.020$ ukazuje da je medijana razlike, izražene u %, vrednosti parametara EF, statistički, značajno različita od nule. Analizom je obuhvaćeno po 67 bolesnika iz grupe ACE II,DI i 25 iz grupe ACE DD, ukupno 92.

Rangirali smo razliku ($EF_{9m}-EF_{1m}$, koje su bile različite od nule, po apsolutnoj vrednosti, tako da je najmanju razliku imao rang 1. U ukupnom uzorku od 92 bolesnika suma negativnih rangova razlika $EF_{9m}-EF_{1m}$ (527.50) značajno je veća od sume pozitivnih rangova (213.500). Kod 54 bolesnika nije bilo promene, kod 26 bolesnika srednji rang je 20.29 i suma 527.50, a kod 12 bolesnika srednji rang je 17.79 a suma rangova je 213.50.

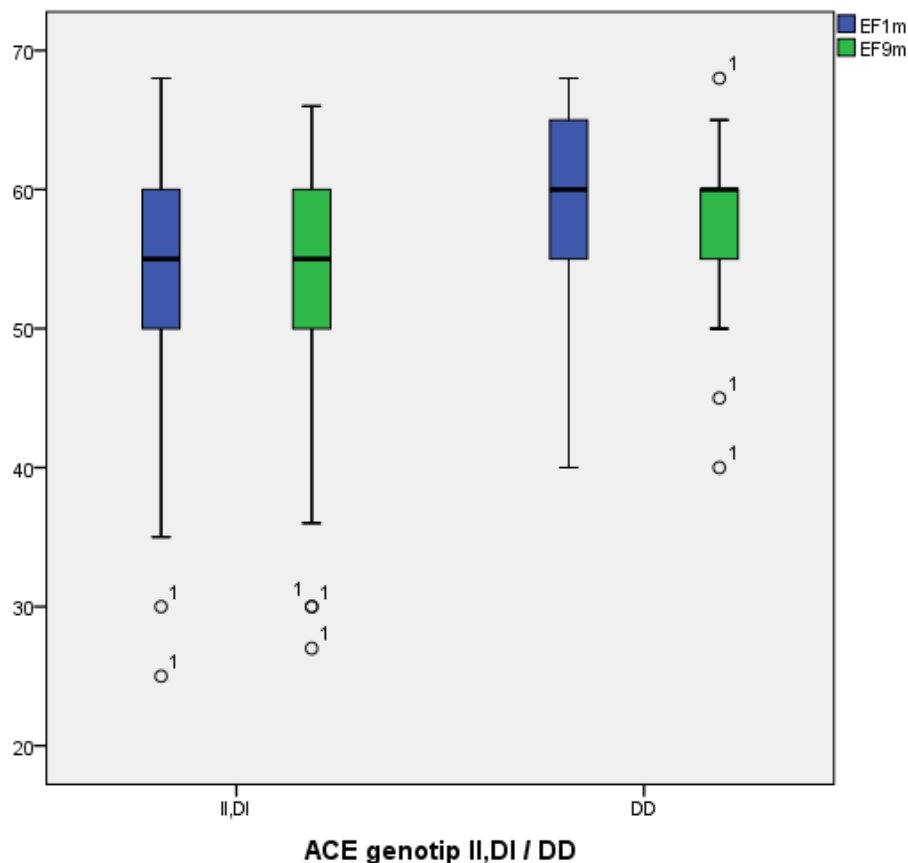
Zaključili smo da je kod 54 bolesnika stanje nepromenjeno između dva merenja, kod 12 je nastalo poboljšanje, a kod 26 pogoršanje i ova razlika je bila statistički značajna ($p=0.020$).



Grafikon 53. Distribucije frekvencija ejeckione frakcije leve komore (EF%) između grupe ACE II/DI i grupe ACE DD u prvom i 9om mesecu

U grupi 67 nosioca ACE genotipa II ili DI između prvog i 9og meseca došlo je do statistički značajnog smanjenja vrednosti EF kod 19 (28.36%) bolesnika, EF se povećala kod 10 (14.92%), a kod 38 (56.71%) bolesnika nije bilo promena vrednosti EF. Zaključeno je da je nastala ststistički značajna promena EF u grupi ACE genotip II, DI ($Z=-2.073$ $p=0.038$).

U drugoj grupi ACE genotipa DD, kod 16 od 25 (60%) bolesnika nije bilo promene u vrednosti EF, kod 2 (8%) je došlo do povećanja vrednosti EF a kod 8 (32%) EF je manja u 9om mesecu studije. U grupi ACE DD nije bilo statistički značajne promene vrednosti EF između prvog i drugog merenja (prvog i devetog meseca $Z= -1060$, $p=0.289$), Grafikon 54.



Grafikon 54. Prikaz promena vrednosti medijane i interkvartilnih razlika ejekcione frakcije leve komore (EF%) u grupama ACE II/DI i ACE DD

Zaključak. U grupi 67 nosilaca ACE genotipa II ili DI, između prvog i 9og meseca, došlo je do značajne promene EF leve komore, kod 56.71% nalaz je isti, 14.92% pokazuje poboljšanje, a kod 28.36% se EF leve komore smanjila ($p=0.038$). U grupi 25 nosilaca ACE genotipa DD kod 60% nije bilo promene u vrednosti EF, kod 2 (8%) došlo je do povećanja EF, a kod 8 (32%) EF je manja u 9om mesecu nego u prvom mesecu studije. U grupi ACE DD nije bilo statistički značajne promene vrednosti EF između prvog i drugog merenja ($p=0.223$).

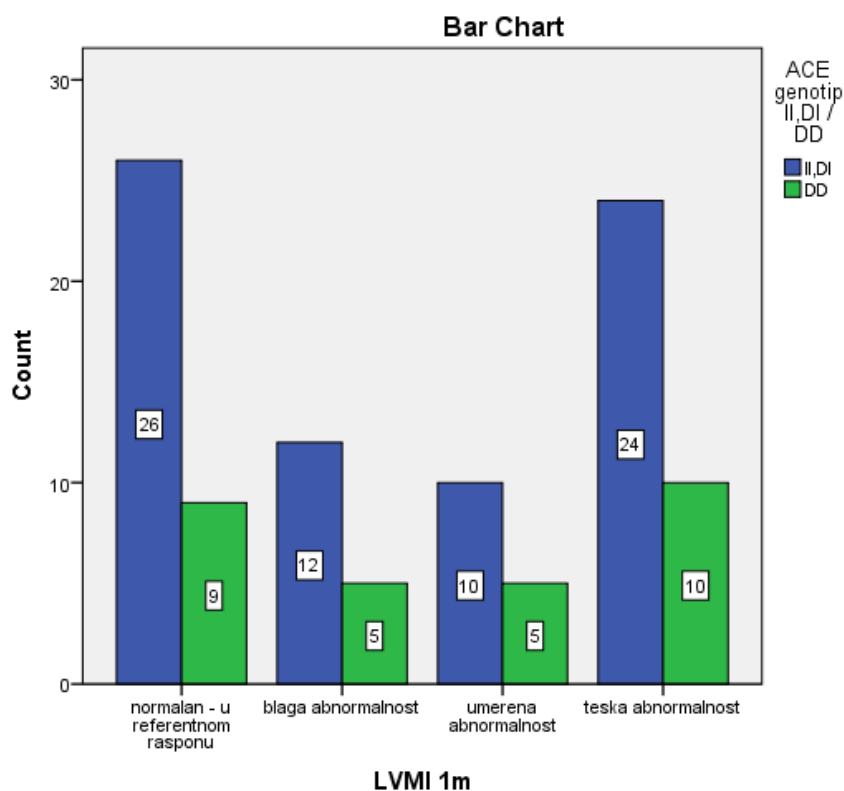
4.5.3. Promena indeksa mase leve komore na jedinicu površine tela (Severity LVMASS index/ body surface area, LVMI) između grupe ACE II,DI i grupe ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci

Indeks mase leve komore na jedinicu površinu tela (LVMI, Severity LVMASS index/ body surface area) je stepenovan od normalnog nalaza do različitog stepena poremaćaja, označenih kao blaga abnormalnost, umerena abnormalnost ili teška abnormalnost LVMI, objašenje u odeljku Metode istraživanja).

U Tabeli 67 i Grafikonu 55 prikazana je raspodela učestalosti kategorije varijable LVMI između dve grupe ACE genotipa I/D, na početku ispitivanja.

Tabela 67. Raspodela frekfencija LVMI prema kategorijama između grupe ACE II,DI i grupe ACE DD u prvom mesecu

LVMI1m	ACE genotip		Total
	II, DI	DD	
0 normalan - u referentnom rasponu	26	9	35
1 blaga abnormalnost	12	5	17
2 umerena abnormalnost	10	5	15
3 teška abnormalnost	24	10	34
Total	72	29	101
Značajnost	Nema uslova za tumačenje χ^2 testa		



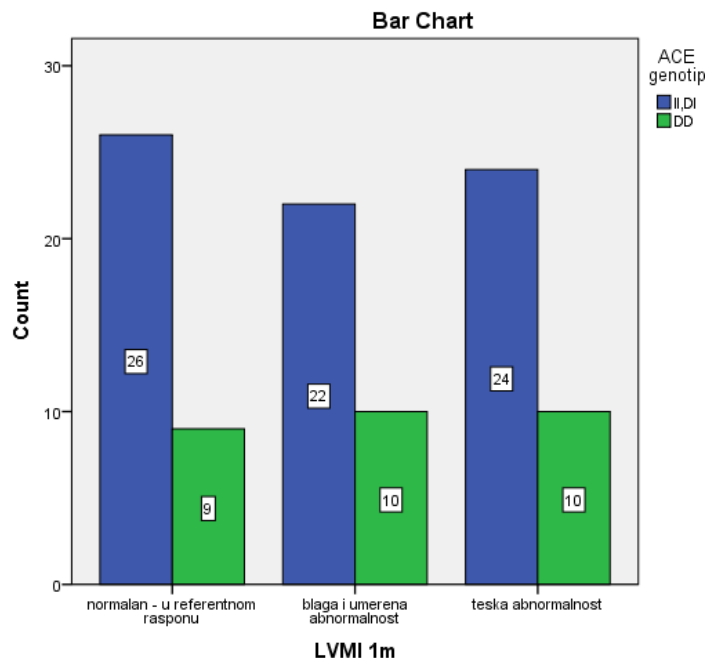
Grafikon 55. Distribucija frekvencija LVMI između grupe genotip ACE II,DI i grupe ACE DD u prvom mesecu

Zbog nepostojanja uslova za tumečenje χ^2 testa kojim smo testirali nultu hipotezu da razlike u raspodeli učestalosti LVMI nisu statistički značajne, izvršili smo sažimanje kategorija blaga i umerena abnormalnost, prikazano na Tabeli 68 i Grafikonu 56.

Tabela 68. Distribucija frekvencija LVMI posle sažimanja u tri kategorije između grupe ACE genotipa II,DI i grupe ACE DD u prvom mesecu

LVMI 1 mesec	ACE genotip		Total
	II, DI	DD	
0 normalan - u referentnom rasponu	26	9	35
1 blaga + umerena abnormalnost	22	10	32
3 teška abnormalnost	24	10	34
Total	72	29	101
Značajnost	$\chi^2=0.262, p= 0.877$		

Vrednost χ^2 testa ($\chi^2=0.322$ $p= 0.877$) za ovako sažetu tablicu kontingencija ukazuje da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji frekvencija između grupa genotipa ACE I,D u odnosu na sažete kategorije varijable LVMI u prvom mesecu (LVMI1m).



Grafikon 56. Distribucije frekvencija LVMI posle sažimanja u tri kategorije između grupe ACE genotipa II,DI i grupe ACE DD u prvom mesecu

U analizu ispitivanja promena koje su nastale u kategorijama LVMI obuhvaćeno je 67 bolesnika iz grupe ACE genotip II, DI i 25 bolesnika iz grupe ACE genotip DD, ukupno 92 bolesnika.

Na nivou svih 92 bolesnika, na početku istraživanja bilo je 33 bolesnika u kategoriji normalna, a na kraju samo njih 22. U kategoriji teška, na početku istraživanja bilo je 29 bolesnika, na kraju istraživanja taj broj se povećao na 38. U kategoriji blaga abnormalnost na početku je bilo 17 a na kraju se taj broj povećao za 2, jedan se povećao broj bolesnika u umerenoj kategoriji sa povećao od 13 na 14 na kraju istraživanja. Na nivou svih bolesnika koji su imali oba merenja Standardizovana test statistika jednaka je -3.084 sa verovatnoćom $p=0.002$, odbacujemo nultu hipotezu, promena pripadništva kategorijama nije podjednako verovatna.

Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMI na početku i na kraju devetomesečnog praćenja u odnosu na grupe ACE genotip I/D prikazana je u Tabeli 69 i

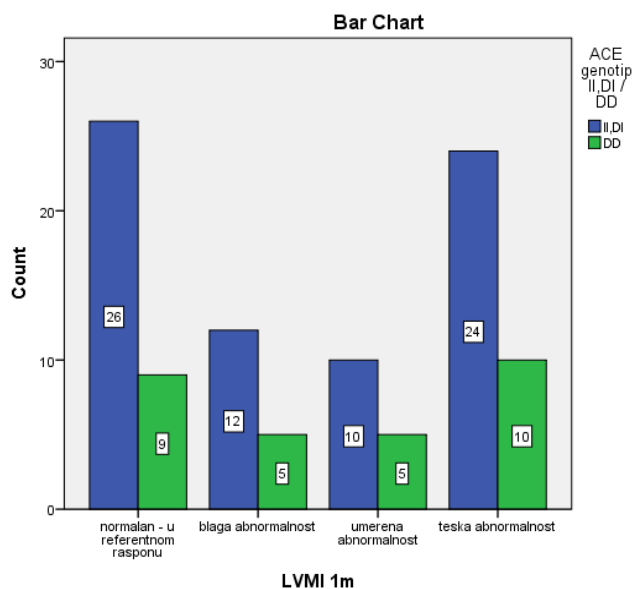
na Grafikonima 57 i 58. Promene u pripadnosti kategorijama između prvog i devetog meseca u grupi bolesnika ACE genotip II, DI pokazale su da je od 24 bolesnika sa normalnim LVMi 14 je ostalo u istoj kategoriji, 9 je prešlo u kategoriju blaga abnormalnost i jedan u tešku abnormalnost. U kategoriji teške abnormalnosti bilo je 21 bolesnik na početku ispitivanja, od kojih je 15 bolesnika ostalo u teškoj kategoriji, 3 je prešlo u umerenu, 2 u blagu abnormalnost.

Za ispitivanje značajnosti promena u kategorijama između prvog i devetog meseca, po bolesniku, koristili smo test granične homogenosti (Marginal homogeneity test). Nulta hipoteza pretpostavlja da je pripadništvo kategorijama u oba merenja podjednako verovatno.

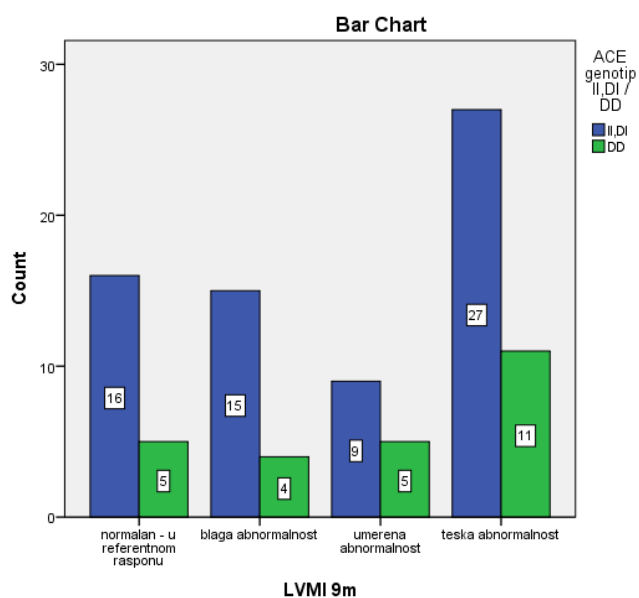
Tabela 69. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMi na početku i na kraju 9og meseca, po grupama ACE II,DI i ACE DD

ACE genotip	LVMi 1m	LVMi 9m (Odnos mase leve komore i površine tela)				Ukupno
		Normalan	Blaga abnorm.	Umerena	Teška	
II, DI	Normalan	14	9	0	1	24
	Blaga abn.	1	3	3	5	12
	Umerena	0	1	3	6	10
	Teška	1	2	3	15	21
	Ukupno	16	15	9	27	67
Značajnost	Standardizovana test statistika = -2.287, p=0.022					
DD	Normalan	4	2	2	1	9
	Blaga	0	2	2	1	5
	Umerena	1	0	0	2	3
	Teška	0	0	1	7	8
	Ukupno	5	4	5	11	25
Značajnost	Standardizovana test statistika = -2.121, p=0.034					
Ukupno	Normalan	18	11	2	2	33
	Blaga abn.	1	5	5	6	17
	Umerena	1	1	3	8	13
	Teška	1	2	4	22	29
	Ukupno	21	19	14	38	92
Značajnost	Standardizovana test statistika = -3.085, p=0.002					

Zaključak. Promene u kategorijama LVMI kod bolesnika iz grupe ACE genotip II, DI od prvog do devetog meseca bile su statistički značajne ($p=0.022$) u smislu pogoršanja LVMI, slično kao u grupi bolesnika ACE genotip DD ($p=0.034$), (Grafikoni 57, 58).



Grafikon 57. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMI grupama ACE II, ID i ACE DD u prvom mesecu



Grafikon 58. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama LVMI grupama ACE II, ID i ACE DD u devetom mesecu

4.5.4. Geometrija relativne debljine leve komore (Geometry RWT) između grupa ACE II/DI i ACE DD kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta

Geometrija RWT definisana je u okviru četiri kategorije: normalna geometrija, koncentrično remodelovanje, koncentrična hipertrofija i ekscentrična hipertrofija, a distribucija bolesnika na početku i na kraju ispitivanja po grupama ACE genotipa I/D prikazana je u Tabeli 70 i na Grafikonu 59. U grupi ACE genotip II, DI bilo je 67 bolesnika a u grupi ACE genotip DD 25 bolesnika, ukupno 92. Promene u pripadništvu kategorijama kod pojedinog bolesnika dogodile su se između prvog i devetog meseca.

Tabela 70. Distribucija frekvencija bolesnika po kategorijama remodelovanja geometrije srca u prvom i 9om mesecu, po grupama ACE genotip II,DI i ACE DD

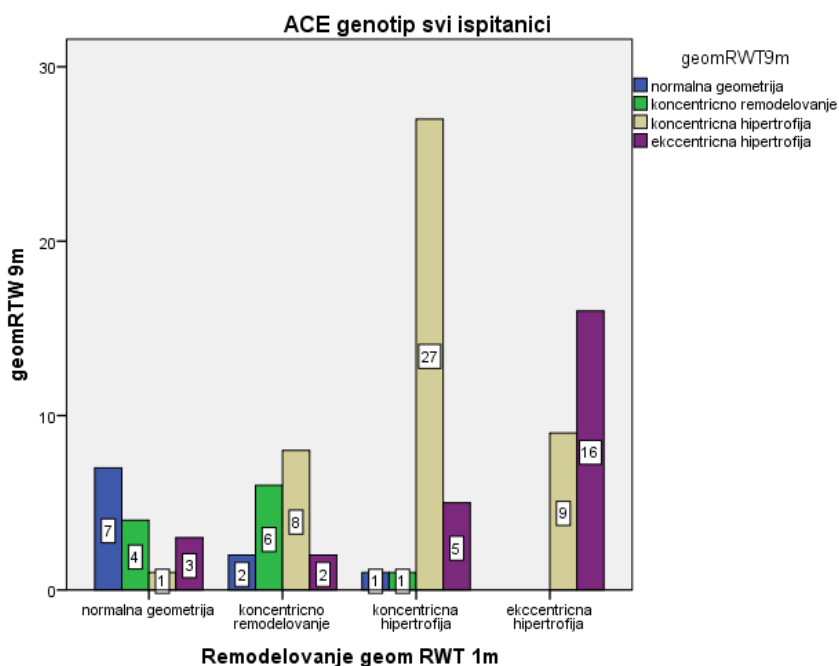
ACE genotip	Geometrija RWT 1m ↓	Geometrija RWT 9m				Ukupno
		0	1	2	3	
II, DI	0	5	4	1	2	12
	1	1	5	4	1	11
	2	1	1	20	2	24
	3	0	0	7	13	20
	Ukupno	7	10	32	18	67
DD	0	2	0	0	1	3
	1	1	1	4	1	7
	2	0	0	7	3	10
	3	0	0	2	3	5
	Ukupno	3	1	13	8	25
Ukupno	0	7	4	1	3	15
	1	2	6	8	2	18
	2	1	1	27	5	34
	3	0	0	9	16	25
	Ukupno	10	11	45	26	92
Značajnost	Standardizovana test statistika = -2.121, p=0.034					
Legenda	0 normalna geometrija 2 koncentrična hipertrofija 1 koncentrično remodelovanje 3 ekscentrična hipertrofija					

U grupi bolesnika ACE genotipa II,DI normalne vrednosti Geometrije RWT imalo je 12 bolesnika, od kojih je 5 bolesnika ostalo u istoj kategoriji, a 4 je prešlo u kategoriju koncentrično remodelovanje, 2 u kategoriju ekscentrična hipertrofiju. U kategoriji koncentrične hipertrofije bilo je 24 bolesnika, od kojih 20 ostaju u istoj

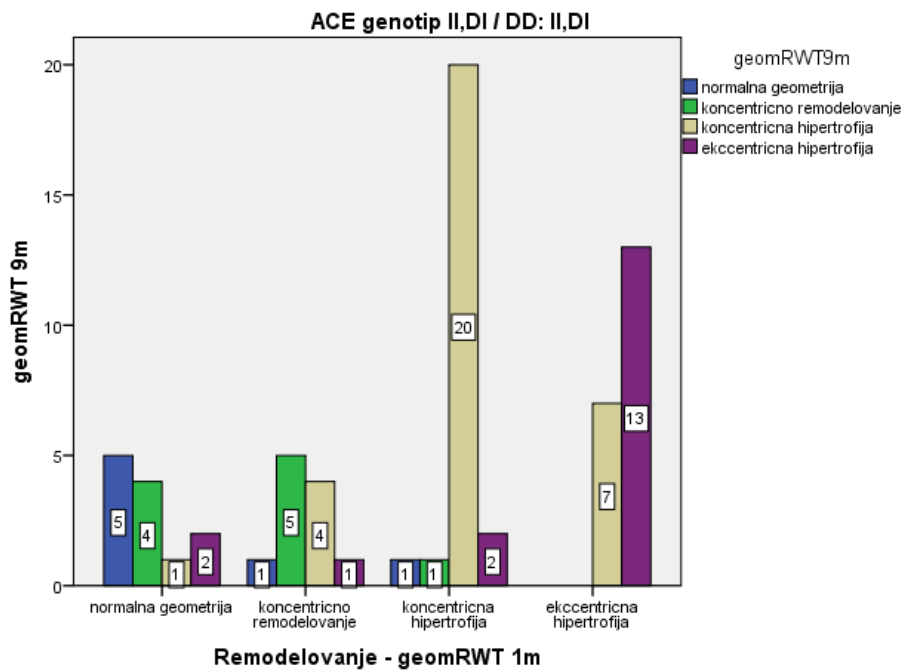
kategoriji, a 2 pogoršavaju nalaz. U kategoriji ekscentrična hipertrofija bilo je 20 bolesnika na početku ispitivanja, od kojih je 13 ostalo u istoj kategoriji, a 7 je prešlo u koncentričnu hipertrofiju. U grupi bolesnika ACE genotipa DD normalne vrednosti Geometrije RWT imalo je 3 bolesnika, od kojih dva ostaju u istoj kategoriji, a jedan bolesnik je prešao kategoriju ekscentrične hipertrofije. U kategoriji ekscentrična hipertrofija bilo je 5 bolesnika na početku ispitivanja, od kojih su tri bolesnika ostala u kategoriji ekscentrične hipertrofije.

Za ispitivanje značajnosti promena u kategorijama između prvog i devetog meseca, po pojedinim ispitanicima, koristili smo test granične homogenosti (Marginal homogeneity test). Nulta hipoteza u govori o tome da je pripadništvo kategorijama u oba merenja podjednako verovatna.

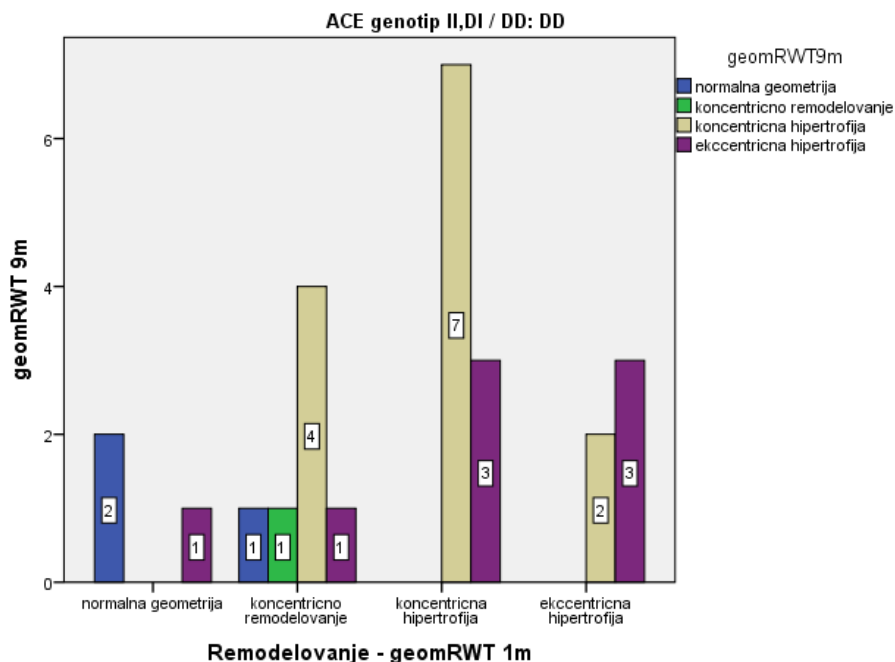
Na nivou svih bolesnika koji su imali oba merenja standardizovana test statistika jednaka je -2.121 sa verovatnoćom $p=0.043$, odbacujemo nultu hipotezu. Naime, promene koje su se desile, prelaskom iz kategorije u kategoriju, nisu bile podjednako verovatne.



Grafikon 59. Distribucija promene frekvencija bolesnika po kategorijama remodelovanja geometrije srca u prvom i 9om mesecu, po grupama ACE genotip II,ID i ACE DD



Grafikon 60. Distribucija promene frekvencija bolesnika po kategorijama remodelovanja geometrije srca u prvom i 9om mesecu, po grupama ACE genotip II,DI



Grafikon 61. Distribucija promene frekvencija bolesnika po kategorijama remodelovanja geometrije srca u prvom i 9om mesecu, po grupama ACE genotip DD

Zaključak. Od 10 bolesnika sa DD genotipom koji su imali koncentričnu hipertrofiju srca, posle 9 meseci 70% ima koncentričnu hipertrofiju, a 30% pogoršava nalaz progresijom u ekscentričnu hipertrofiju. Od 24 bolesnika sa II/DI genotipom 83.3% ima koncentričnu hipertrofiju posle 9 meseci, a 16.7% bolesnika progrediraju u ekscentričnu hipertrofiju.

Napomena.

- normalna geometrija ($RWT \leq 0.42$ i $LVMI \leq 95$ žene, $LVMI \leq 115$ muškarci)
- koncentrično remodelovanje ($RWT > 0.42$ i $LVMI \leq 95$ žene, $LVMI \leq 115$ muškarci)
- koncentrična hipertrofija ($RWT \leq 0.42$ i $LVMI > 95$ žene, $LVMI > 115$ muškarci)
- ekscentrična hipertrofija ($RWT > 0.42$ i $LVMI > 95$ žene, $LVMI > 115$ muškarci) (244-246).

4.6. PROMENE U KRVNOM PRITISKU

4.6.1. Sistolni krvni pritisak (TAS, mmHg) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Prosečna vrednost sistolnog krvnog pritiska (TAS) na prvom merenju u grupi bolesnika na peroralnoj terapiji groždem iznosila je 129.78 mmHg sa odstupanjem od 18.42 mmHg, a u grupi na IV terapiji Fe iznosila je 132.37 mmHg sa odstupanjem od 17.13 mmHg. Razlike u prosečnim vrednostima nije bila značajna (t-test=0.731, p=0.455), i prikazane su u Tabeli 71.

Tabela 71. Promene sistolnog krvnog pritiska (TAS) između terapijskih grupa supstitucije gvožđa (Per os FE i IV Fe) tokom 9 meseci

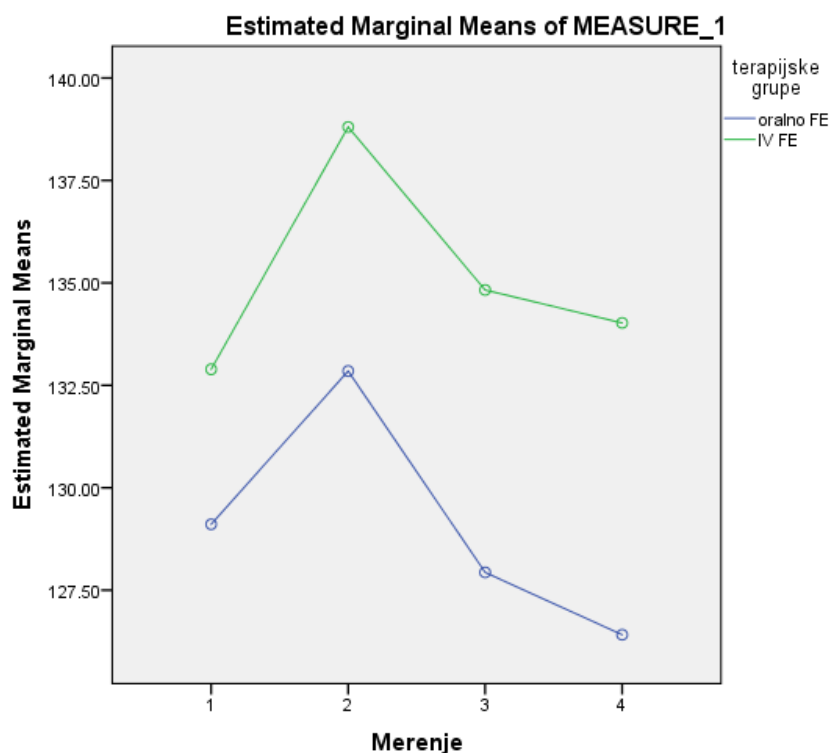
Tip terapije Fe	Statističke mere		TAS1m	TAS3m	TAS6m	TAS9m
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		129.78	132.94	128.40	126.41
	Median		130.00	137.50	130.00	130.00
	SD		18.42	21.46	21.85	18.73
	Minimum		90.00	85.00	70.00	90.00
	Maximum		160.00	180.00	170.00	160.00
	Percentiles	25	120.00	116.25	110.00	113.75
		50	130.00	137.50	130.00	130.00
		75	142.50	150.00	145.00	141.25
IV	N		52	50	47	46
	Missing		0	2	5	6
	Mean		132.37	138.70	135.57	134.02
	Median		132.50	140.00	140.00	137.50
	SD		17.13	20.55	17.29	18.40
	Minimum		100.00	100.00	105.00	100.00
	Maximum		180.00	190.00	170.00	175.00
	Percentiles	25	120.00	120.00	120.00	120.00
		50	132.50	140.00	140.00	137.50
		75	145.25	150.00	150.00	150.00
Značajnost razlike između grupa	t-test	0.731	-1.358	-1.754	-0.966	
	p	0.455	0.178	0.081	0.052	

Bolesnici na IV Fe su imali veće vrednosti TAS svih 9 meseci, razlika se približava značajnosti u 9om mesecu ($p=0.052$).

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti mesec), između dve terapijske grupe Fe. Model promena prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska između terapijskih grupa nije statistički značajno različit (merenje * terapijska grupa Fe). Međutim, između prvog i trećeg meseca procenjen je statistički značajan porast prosečnih vrednosti TAS ($F=11.756$ i $p=0.001$), a između trećeg i šestog meseca pad TAS ($F=7.742$ i $p=0.007$). Pad TAS se nastavlja i između šestog i devetog meseca. Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe Fe (Tabela 72, Grafikon 60).

Tabela 72. Značajnost promene sistolnog pritiska između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između terapijskih grupa supstitucije gvožđa

Izvor variranja	Merenje TAS	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	11.756	0.001
	Merenje2 vs. Merenje3	7.742	0.007
	Merenje3 vs. Merenje4	0.66	0.419
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.596	0.442
	Merenje2 vs. Merenje3	0.086	0.771
	Merenje3 vs. Merenje4	0.063	0.803



Grafikon 60. Kretanje procenjenih prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska (TAS) u dve terapijske grupe gvožđa, tokom 9 meseci praćenja

Zaključak. Prosečne vrednosti sistolnog krvnog pritiska (TAS) su se slično kretale u dve terapijske grupe Fe (Per os FE i IV FE), sa značajnim porastom u trećem i padom TAS 6om mesecu terapije. Bolesnici na IV Fe su imali veće vrednosti TAS svih 9 meseci, razlika se približava značajnosti u 9om mesecu ($p=0.052$).

4.6.2. Dijastolni krvni pritisak (TAD, mmHg) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Prosečna vrednost dijastolnog krvnog pritiska (TAD) na prvom merenju u grupi bolesnika na per os terapiji groždem iznosila je 73.65 mmHg sa odstupanjem od 9.61 mmHg, a u grupi na IV terapiji Fe bila je 74.00 mmHg sa odstupanjem od 9.46 mmHg. Razlika u prosečnim vrednostima nije bila značajna (t-test=-0.183, p=0.855), (Tabela 73).

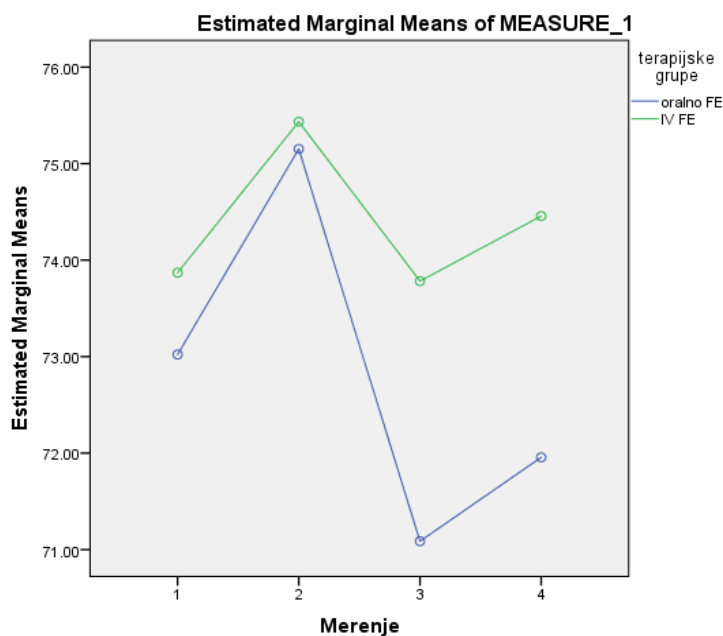
Tabela 73. Promene dijastolnog krvnog pritiska (TAD) između terapijskih grupa supstitucije gvožđa (per os FE i IV Fe) tokom 9 meseci

Tip terapije	Statističke mere		TAD1m	TAD3m	TAD6m	TAD9m
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		73.65	75.15	71.28	71.96
	Median		70.00	80.00	70.00	70.00
	SD		9.61	9.29	10.76	8.59
	Minimum		50.00	50.00	40.00	50.00
	Maximum		90.00	100.00	100.00	90.00
	Percentiles	25	70.00	70.00	60.00	70.00
		50	70.00	80.00	70.00	70.00
75		80.00	80.00	80.00	80.00	
IV	N		52	50	47	46
	Missing		0	2	5	6
	Mean		74.00	75.40	74.13	74.46
	Median		70.00	80.00	70.00	75.00
	SD		9.46	8.56	9.99	8.18
	Minimum		58.00	60.00	50.00	60.00
	Maximum		100.00	100.00	100.00	100.00
	Percentiles	25	70.00	70.00	70.00	70.00
		50	70.00	80.00	70.00	75.00
75		80.00	80.00	80.00	80.00	
Značajnost razlike između grupa	t-test	-0,183	-0,141	-1,331	-1,429	
	p	0,855	0,888	0,186	0,156	

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti dijastolnog krvnog pritiska u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti mesec) između dve terapijske grupe Fe. Model promena prosečnih vrednosti dijastolnog krvnog pritiska između terapijskih grupa Fe nije statistički značajno različit (merenje * terapijska grupa Fe). Međutim, između prvog i trećeg meseca evidentan je statistički značajan porast prosečnih vrednosti ($F=5.602$ i $p=0.020$), a između trećeg i šestog meseca pad, koji je takođe statistički značajan ($F=11,529$ i $p=0,001$). Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe terapijske grupe Fe, ukupno 92 bolesnika (Tabela 74, Grafikon 61).

Tabela 74. Značajnost promene dijastolnog krvnog pritiska između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između terapijskih grupa supstitucije gvožđa

Izvor variranja	Merenje TAD	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	5.602	0.020
	Merenje2 vs. Merenje3	11.529	0.001
	Merenje3 vs. Merenje4	0.806	0.372
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.131	0.718
	Merenje2 vs. Merenje3	2.054	0.155
	Merenje3 vs. Merenje4	0.013	0.910



Grafikon 61. Kretanje procenjenih prosečnih vrednosti dijastolnog krvnog pritiska (TAD) u dve terapijske grupe gvožđa, tokom 9 meseci praćenja

Zaključak. Prosečne vrednosti dijastolnog krvnog pritiska (TAD) su se slično kretale u dve terapijske grupe Fe (Per os FE i IV FE), sa značajnim porastom u trećem mesecu i padom u šestom mesecu studije. Bolesnici na IV Fe imali su nešto veće vrednosti TAD svih 9 meseci, razlika nije bila značajna.

4.6.3. Srednji krvni pritisak (MAP, mmHg) u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa (Fe) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Prosečna vrednost srednjeg arterijski pritiska (MAP) na prvom merenju u grupi bolesnika na per os terapiji gvoždem iznosila je 92.36 mmHg, sa odstupanjem od 11.82 mmHg, a u grupi na IV terapiji Fe bila je 93.46 mmHg sa odstupanjem od 10.74 mmHg. Razlika u prosečnim vrednostima nije bila značajna (t-test =-0.488, p=0.6277), (Tabela 75).

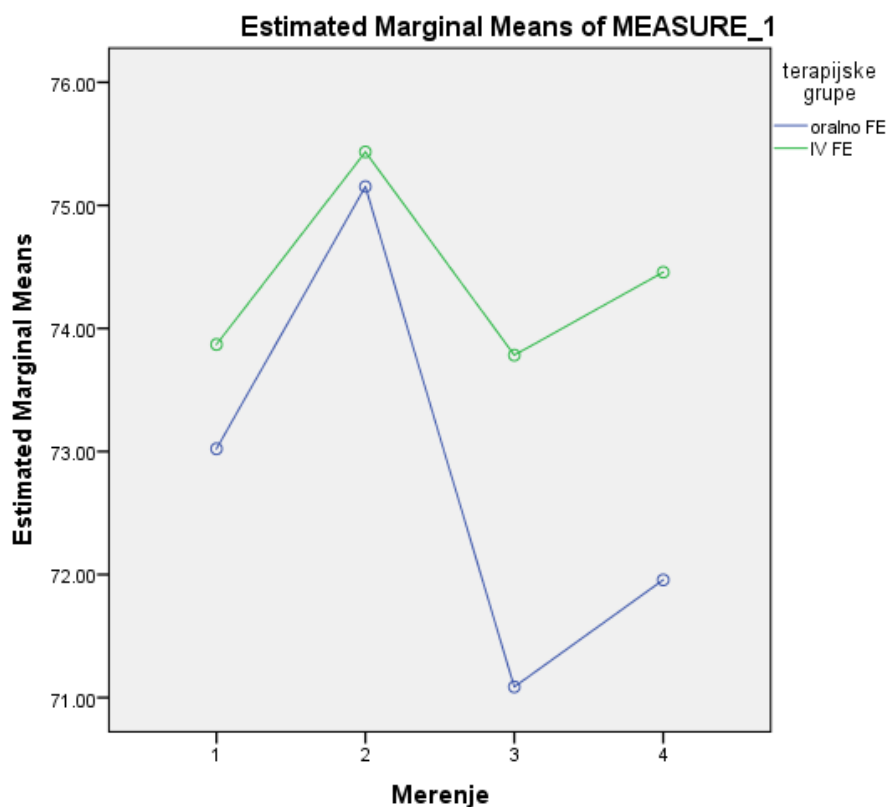
Tabela 75. Promene srednjeg krvnog pritiska (MAP) između terapijskih grupa supstitucije gvožđa (per os FE I IV Fe) tokom 9 meseci

Tip terapije Fe	Statističke mere		MAP1m	MAP2m	MAP3m	MAP4m
Per os	N		49	48	47	46
	Missing		0	1	2	3
	Mean		92.36	94.41	90.32	90.11
	Median		91.67	95.83	90.00	90.00
	SD		11.82	12.36	13.64	11.09
	Minimum		63.33	61.67	50.00	63.33
	Maximum		113.33	126.67	123.33	111.67
	Percentiles	25	85.00	86.67	83.33	83.33
		50	91.67	95.83	90.00	90.00
		75	100.00	103.33	101.67	97.50
IV	N		52	50	47	46
	Missing		0	2	5	6
	Mean		93.46	96.50	94.61	94.31
	Median		92.50	96.67	93.33	94.17
	SD		10.74	11.42	10.97	10.46
	Minimum		73.33	73.33	76.67	73.33
	Maximum		120.00	130.00	123.33	125.00
	Percentiles	25	86.67	87.92	86.67	89.58
		50	92.50	96.67	93.33	94.17
		75	100.00	103.33	103.33	100.00
Značajnost razlike između grupa		t-test	-0.48	-0.870	-1.681	-1.871
		p	0.627	0.387	0.096	0.065

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti srednjeg arterijskog krvnog pritiska u sva četiri merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između dve terapijske grupe Fe. Model promena prosečnih vrednosti srednjeg krvnog pritiska između terapijskih grupa Fe nije statistički značajno različit (merenje * terapijska grupa FE). Međutim, između prvog i trećeg meseca evidentan je statistički značajan porast prosečnih vrednosti MAP (F= 11.371 i p= 0.001), a između trećeg i šestog meseca pad vrednosti MAP (F=12.637 i p= 0.001). Zatim sledi rast prosečnih vrednosti između šestog i devetog meseca, koji nije statistički značajan. Analizom je obuhvaćeno po 46 bolesnika iz obe grupe, ukupno 92 bolesnika, (Tabela 76, Grafikon 62).

Tabela 76. Značajnost promene srednjeg krvnog pritiska između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između terapijskih grupa supstitucije gvožđa

Izvor variranja	Merenje MAP	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	11.371	0.001
	Merenje2 vs. Merenje3	12.637	0.001
	Merenje3 vs. Merenje4	0.022	0.884
Merenje * terapijska grupa FE	Merenje1 vs. Merenje2	0.043	0.837
	Merenje2 vs. Merenje3	1.015	0.316
	Merenje3 vs. Merenje4	0.004	0.950



Grafikon 62. Kretanje procenjenih prosečnih vrednosti srednjeg krvnog pritiska (MAP) u dve terapijske grupe gvožđa, tokom 9 meseci praćenja

Zaključak. Prosečne vrednosti srednjeg krvnog pritiska (MAP) su se slično kretale u dve terapijske grupe Fe (Per os FE i IV FE), sa značajnim porastom u trećem i padom MAP u 6om mesecu studije. Bolesnici na IV Fe su imali veće vrednosti MAP svih 9 meseci, razlika nije značajna.

4.6.4. Sistolni krvni pritisak (TAS, mmHg) u dve terapijske grupe ACE genotipa (II,DI i DD) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Prosečna vrednost sistolnog krvnog pritiska na prvom merenju u grupi bolesnika ACE genotip II,DI iznosila je 132.18 mmHg sa odstupanjem od 17.69 mmHg, a u grupi bolesnika nosioca ACE genotip DD bila je manja 128.45 mmHg sa odstupanjem od 17.83 mmHg. Razlika u prosečnim vrednostima nije bila značajna (t-test=0.951, p=0.345). Statistički značajne razlike u većem nivou sistolnog krvnog pritiska u grupi ACE II,DI evidentirane su u trećem (p=0.023) i devetom mesecu (p=0.007), (Tabela 77).

Tabela 77. Promene sistolnog krvnog pritiska (TAS) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

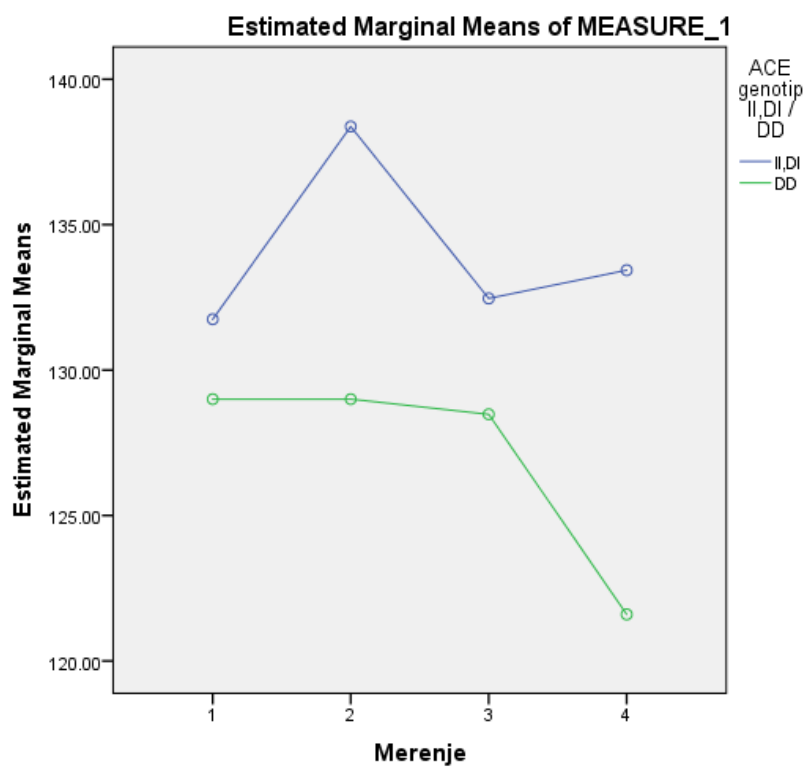
ACE grupe	Statističke mere		TAS1m	TAS3m	TAS6m	TAS9m	
II,DI	N		72	69	69	67	
	Missing		0	3	3	5	
	Mean		132.18	139.00	133.26	133.43	
	Median		130.00	140.00	133.00	135.00	
	SD		17.69	20.91	19.50	18.39	
	Minimum		100.00	90.00	90.00	95.00	
	Maximum		180.00	190.00	170.00	175.00	
	Percentiles	25		120.00	122.50	115.00	120.00
		50		130.00	140.00	133.00	135.00
75			143.75	150.00	150.00	150.00	
DD	N		29	29	25	29	
	Missing		0	0	4	0	
	Mean		128.45	128.45	128.48	128.45	
	Median		125.00	130.00	140.00	125.00	
	SD		17.83	19.96	21.05	17.83	
	Minimum		90.00	85.00	70.00	90.00	
	Maximum		160.00	160.00	150.00	160.00	
	Percentiles	25		120.00	115.00	117.50	120.00
		50		125.00	130.00	140.00	125.00
75			145.00	147.50	143.50	145.00	
Značajnost razlike između grupa	t-test		0.951	-2.311	-1.028	-2.775	
	p		0.345	0.023	0.302	0.007	

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti

mesec) između dve grupe ACE genotipa I/D. Model promena prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska između terapijskih grupa statistički je značajno različit (merenje * grupa ACE genotipa I/D). Između prvog i trećeg meseca evidentan je značajan porast prosečnih vrednosti TAS u grupi nosioca ACE genotipa II,DI, dok u drugoj grupi je prisutan veoma blag pad vrednosti sistolnog krvnog pritiska. Promene prosečnih vrednosti krvnog pritiska između prvog i trećeg meseca statistički su značajne promene između grupa (F=4.579 i p= 0.035). Između trećeg i šestog meseca u grupi bolesnika ACE genotipa II,DI evidentan je pad, model promena nije statistički značajan (F=3.285 i p= 0.073). U periodu između šestog i devetog meseca u grupi ACE II,DI evidentiran je porast sistolnog krvnog pritiska a u grupi ACE DD pad, model promena TAS između dve grupe statistički je značajan (F=6.371, p=0.013). Analizom je obuhvaćeno 67 iz grupe ACE II,DI i 29 iz grupe ACE DD, ukupno 96 bolesnika (Tabela 78, Grafikon 63).

Tabela 78. Značajnost promene sistolnog krvnog pritiska između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	4.579	0.035
	Merenje2 vs. Merenje3	3.285	0.073
	Merenje3 vs. Merenje4	3.611	0.061
Merenje * grupa ACE genotipa I/D	Merenje1 vs. Merenje2	4.579	0.035
	Merenje2 vs. Merenje3	2.308	0.132
	Merenje3 vs. Merenje4	6.371	0.013



Grafikon 63. Kretanje procenjenih prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska (TAS) u između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

4.6.5. Dijastolni krvni pritisak (TAD, mmHg) u dve terapijske grupe ACE genotipa (II,DI i DD) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Prosečna vrednost dijastolnog krvnog pritiska na prvom merenju u grupi bolesnika ACE genotip II,DI iznosila je 74.47 mmHG sa odstupanjem od 9.80 mmHg a u grupi bolesnika ACE genotip DD bila je manja 72.24 mmHg i odstupanjem od 8.62 MmHg. Razlika u prosečnih vrednsoti nije bila statistički značajno različita (t-test =1.070, p=0.287). Statistički značajne razlike u nivou dijastolnog krvnog pritiska evidentirani su u drugom i četvrtom merenju (Tabela 79).

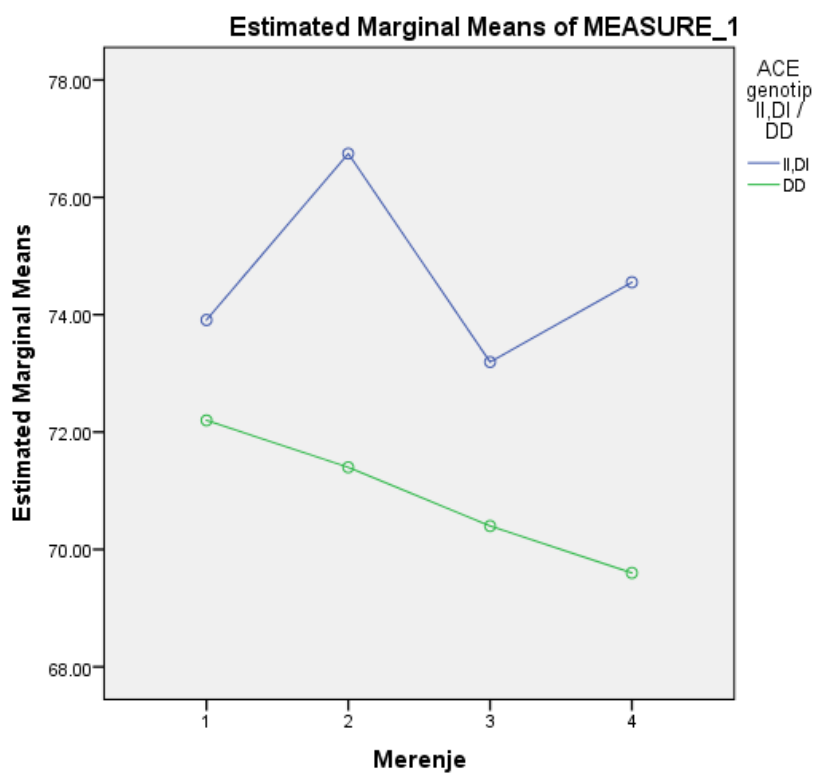
Tabela 79. Promene dijastolnog krvnog pritiska (TAD) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

ACE grupe	Statističke mere		TAD1m	TAD3m	TAD6m	TAD9m
II,DI	N		72	69	69	67
	Missing		0	3	3	5
	Mean		74.47	76.99	73.54	74.55
	Median		70.00	80.00	70.00	70.00
	SD		9.80	8.86	10.17	7.96
	Minimum		58.00	60.00	50.00	60.00
	Maximum		100.00	100.00	100.00	100.00
	Percentiles	25	70.00	70.00	70.00	70.00
		50	70.00	80.00	70.00	70.00
75		80.00	80.00	80.00	80.00	
DD	N		29	29	25	25
	Missing		0	0	4	4
	Mean		72.24	71.21	70.40	69.60
	Median		70.00	70.00	70.00	70.00
	SD		8.62	7.64	10.98	8.77
	Minimum		50.00	50.00	40.00	50.00
	Maximum		90.00	80.00	90.00	90.00
	Percentiles	25	70.00	70.00	60.00	60.00
		50	70.00	70.00	70.00	70.00
75		80.00	80.00	80.00	75.00	
Značajnost razlike između grupa	t-test	1.070	3.065	1.293	2.581	
	P	0.287	0.003	0.199	0.018	

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti mesec) između dve terapijske grupe ACE genotipa. Model promena prosečnih vrednosti sistolnog krvnog pritiska između grupa ACE genotipa I/D statistički je značajno različit (merenje * grupa ACE genotipa I/D). Između prvog i trećeg meseca evidentan je značajan porast prosečnih vrednosti u grupi bolesnika ACE genotipa II,DI, dok u drugoj grupi je prisutan pad vrednosti dijastolnog krvnog pritiska. Promene prosečnih vrednosti dijastolnog krvnog pritiska između prvog i drugom merenja statistički su značajne, ali statistički je značajan i model promena između grupa (F=4.500 i p=0.037). Između trećeg i šestog meseca u grupi bolesnika ACE genotipa II,DI evidentan je dalji pad, dok u grupi ACE DD prisutan je pad pod istim nagibom, ove promene između trećeg i šestog meseca statistički su značajne (F=5.770 i p=0.018), Međutim, između ova dva merenja model promena između grupa nije statistički značajan (F=1.814 i p=0.181). U periodu između šestog i devetog meseca, u grupi ACE II,DI evidentiran je porast dijastolnog krvnog pritiska, a u grupi ACE DD nastavlja se pad, pri čemu model promena između dve grupe nije statistički značajan (F=1.625, p=0.263). Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnika iz grupe ACE II,DI i 25 bolesnika iz grupe ACE DD, ukupno 92 bolesnika (Tabela 80, Grafikon 64).

Tabela 80. Značajnost promene dijastolnog krvnog pritiska između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između grupa genotipa tokom 9 meseci praćenja

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	1.411	0.238
	Merenje2 vs. Merenje3	5.770	0.018
	Merenje3 vs. Merenje4	0.085	0.772
Merenje * grupa ACE II,DI i ACE DD	Merenje1 vs. Merenje2	4.500	0.037
	Merenje2 vs. Merenje3	1.814	0.181
	Merenje3 vs. Merenje4	1.265	0.264



Grafikon 64. Kretanje procenjenih prosečnih vrednosti dijastolnog krvnog pritiska (TAS) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

4.6.6. Srednji krvni pritisak (MAP, mmHg) u dve terapijske grupe ACE genotipa (II,DI i DD) kod bolesnika na hemodijalizi, na terapiji eritropoetinom beta tokom 9 meseci praćenja

Prosečna vrednost srednjeg arterijskog krvnog pritiska (MAP) na prvom merenju u grupi bolesnika ACE genotip II,DI iznosila je 93.71 mmHg sa odstupanjem od 11.45 mmHg, a u grupi bolesnika ACE genotip DD bila je 90.98 mmHg sa odstupanjem od 10.60 mmHg. Razlika u prosečnim vrednostima nije bila značajna (t-test=1.107, p=0.271). Statistički značajne razlike u nivoima srednjeg arterijskog krvnog pritiska između grupa Ace genotipa I/D evidentirane su u trećem (p=0.004) i u devetom mesecu (p=0.006), (Tabela 81).

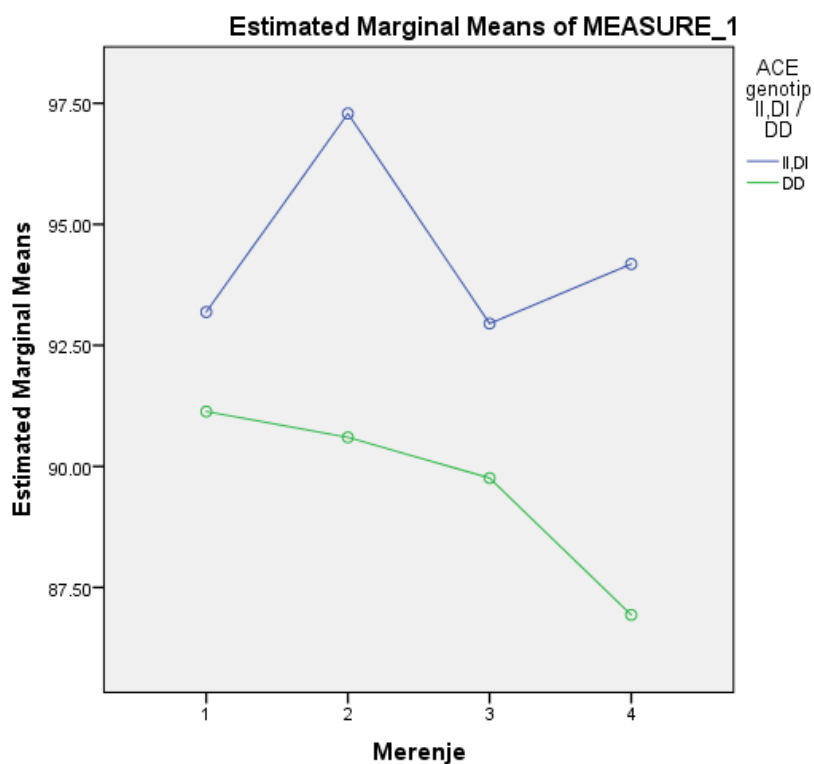
Tabela 81. Promene srednjeg krvnog pritiska (MAP) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

ACE grupe	Statističke mere		MAP1m	MAP3m	MAP6m	MAP9m
II,DI	N		72	69	69	67
	Missing		0	3	3	5
	Mean		93.71	97.66	93.44	94.18
	Median		92.50	100.00	91.67	96.67
	SD		11.45	11.79	12.02	10.33
	Minimum		73.33	70.00	63.33	73.33
	Maximum		120.00	130.00	123.33	125.00
	Percentiles	25	85.42	90.00	84.33	86.67
		50	92.50	100.00	91.67	96.67
75		102.50	104.17	103.33	100.00	
DD	N		29	29	25	25
	Missing		0	0	4	4
	Mean		90.98	90.29	89.76	86.93
	Median		91.67	90.00	91.67	90.00
	SD		10.60	10.56	13.63	10.92
	Minimum		63.33	61.67	50.00	63.33
	Maximum		110.00	106.67	110.00	110.00
	Percentiles	25	86.67	85.83	82.50	78.33
		50	91.67	90.00	91.67	90.00
75		98.33	97.50	100.00	94.17	
Značajnost razlike između grupa	t-test	1.107	2.910	1.261	2948	
	p	0.271	0.004	0.208	0.006	

Primenom dvofaktorske analize varijanse za ponovljena merenja ispitivali smo kretanje prosečnih vrednosti srednjeg krvnog pritiska u sva četiri vremena (1, 3, 6 i 9ti mesec) između dve grupe ACE genotipa. Model promena prosečnih vrednosti srednjeg arterijskog pritiska između grupa ACE genotipa I/D statistički je značajno različit (merenje * grupa ACE genotipa I/D). Između prvog i trećeg meseca evidentan je porast prosečnih vrednosti u grupi bolesnika ACE genotipa II,DI, dok u grupi ACE DD je prisutan veoma blag pad vrednosti srednjeg krvnog pritiska. Promene prosečnih vrednosti srednjeg krvnog pritiska između prvog i trećeg meseca nije statistički značajan, međutim, statistički je značajan model promena između grupa (F=6.409 i p=0.013). Između trećeg i šestog meseca u grupi bolesnika ACE genotipa II,DI evidentan je pad, dok u grupi ACE DD pritisak je stabilan, između ova dva merenja model promena statistički je značajan (F=5.953 i p=0.017). U periodu između šestog i devetog meseca, u grupi ACE II,DI evidentiran je porast srednjeg krvnog pritiska a u grupi ACE DD pad MAP, model promena srednjeg krvnog pritiska između dve grupe u tom periodu je statistički značajan (F=4.589, p=0.0035). Analizom je obuhvaćeno 67 bolesnik grupe ACE II,DI i 25 bolesnika grupe ACE DD, ukupno 92 bolesnika (Tabela 82, Grafikon 65).

Tabela 82. Značajnost promene srednjeg krvnog pritiska između pojedinih merenja (1, 3, 6 i 9ti mesec) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

Izvor variranja	Merenje	F	Sig.
Merenje	Merenje1 vs. Merenje2	3.797	0.054
	Merenje2 vs. Merenje3	5.953	0.017
	Merenje3 vs. Merenje4	0.712	0.401
Merenje * grupa ACE genotipa I/D	Merenje1 vs. Merenje2	6.409	0.013
	Merenje2 vs. Merenje3	2.717	0.103
	Merenje3 vs. Merenje4	4.589	0.035



Grafikon 65. Kretanje procenjenih prosečnih vrednosti srednjeg krvnog pritiska (MAP) između grupa genotipa ACE II,DI i ACE DD tokom 9 meseci praćenja

Zaključak. Prosečne vrednosti dijastolnog, sistolnog i srednjeg krvnog pritiska bile su veće u grupi nosilaca genotipa ACE II,DI nego ACE DD, što ukazuje na bolju kontrolu krvnog pritiska u nosilaca ACE DD genotipa.

4.7. PROMENE KARDIOLOŠKIH PARAMETARA U TOKU TERAPIJE GVOŽDEM I ERITROPOETINOM PREMA TERAPIJSKIM GRUPAMA I GRUPAMA GENOTIPOVA ACE (KARDIOLOŠKI PARAMETRI I KRVNI PRITISAK)

Shema 10. Promene kardioloških parametara i krvnog pritiska u terapijskim grupama supstitucije gvožđa

mesec parametar	Per os FE				IV FE			
	1m	1m prema 9m			1m	1m prema 9m		
RWT, cm	Medijana 0.44cm)	Medijana 0.44cm →ns			Medijana 0.45cm	Medijana 0.48cm → ns		
EF, %	Medijana 60%	Medijana 55% ↓* opadanje 52.17% nepromenjen 13.05% povećanje 34.78% smanjenje			Medijana 55%	Medijana 55% → ns 65.21% nepromenjen 13.05% povećanje 21.74% smanjenje		
LVMi, g/m2 Norm. nalaz Blaga abn. Umerena abn. Teška abn.	Normalno 34.7% Blaga abn. 19.5% Um abn. 8.6% Teš abn. 36.9%	→ Normalno21.7% Blaga abn. 21.7% Um abn. 19.5% Teš abn. 36.9% 50% zadržava normal LVMi			Normalno36.9% Blaga abn.17.3% Um abn. 18.5% Teš abn. 26.0%	*↓ pogoršanje Norm nal. 23.9% Blaga abn. 19.5% Um abn. 10.8% Teš abn. 45.6% 58,82% izadržava normalan LVMi		
Geometrija RWT Norm. geom. Konc. rem. Konc. HLK Eskc. HLK	Normalna 13.0% Konc rem 23.9% Konc hip 36.9% Eskc hip 26.0%	*↓ pogoršanje Norm geo10.8% Konc rem 10.8% Konc HLK 43.4% Eskc HLK 34.7% 44.4% zadržava normalan nalaz 64.70% zadržava konc HLK 33.3% eskc.HLK se poboljšalo			Norm geo 19.5% Konc rem 15.2% Konc HLK 36.9% Eskc HLK 28.2%	→nepromenjeno Norm geo 10.8% Konc rem 13.0% Konc HLK 54.3% Eskc HLK 21.7% 50% zadržava normalan nalaz 94.11% zadržava koncentričnu HLK 38.46% eskc.HLK se poboljšalo		
TAS, mmHg	1m	3m	6m	9m	1m	3m	6m	9m
	→	↑*	↓*	→	→	↑*	↓*	→
TAD, mmHg	→	↑*	↓*	→	→	↑*	↓*	→
MAP, mmHg	→	↑*	↓*	→	→	↑*	↓*	→

* p<0.05

Shema 11. Promene kardioloških parametara i krvnog pritiska u grupama I/D polimorfizma ACE genotipa

Grupa	ACE II/DI				ACE DD			
	mesec parametar	1m	1m prema 9m		1m	1m prema 9m		
RWT cm		Medijana 0.44cm	Medijana 0.45cm ↑ (blago raste) ns		Medijana 0.50cm	Medijana 0.47cm ↓ (blago opada) ns		
EF, %		Medijana 60%	Medijana 55% * ↓ pogoršanje 56.71% nepromenjen 14.92% poboljšanje 28.36% opadanje EF		Medijana 55%	Medijana 60% → nepromenjeno 60% nepromenjen 8% poboljšanje 32% opadanje EF		
LVMi, g/m ²			↓*(pogoršanje)			↓*(pogoršanje)		
Norm. nalaz		Norm nal. 35.8%	Norm nal. 23.8%		Norm nal. 36.0%	Norm nal. 20.0%		
Blaga abn.		Blaga abn. 17.9%	Blaga abn. 22.3%		Blaga abn. 20.0%	Blaga abn. 16.0%		
Umerena abn.		Um abn. 14.9%	Um abn. 13.4%		Um abn. 12.0%	Um abn. 20.0%		
Teška abn.		Teš abn. 31.3%	Teš abn. 40.2%		Teš abn. 32.0%	Teš abn. 44.0%		
Geometrija RWT			↓* pogoršanje			↓* pogoršanje		
Norm. geom.		Norm geo 17.9%	Norm geo 10.4%		Norm geo 12.0%	Norm geo 12.0%		
Konc. rem.		Konc renm 16.4%	Konc rem 14.9%		Konc rem 28.0%	Konc rem 4.0%		
Konc. HLK		Konc HLK 35.8%	Konc HLK 47.7%		Konc HLK 40.0%	Konc HLK 56.0%		
Eskc. HLK		Eksk HLK 29.8%	Eksk HLK 26.8%		Eksk HLK 20.0%	Eksk HLK 32.0%		
			83.3% zadržava koncentričnu HLK			70% zadržava koncentričnu HLK		
			16.7% konc HLK pogoršava u eksk HLK			30% konc HLK pogoršava u eksk HLK		
TAS, mmHg	1m	3m	6m	9m	1m	3m	6m	9m
	→	↑*	→ opada ali ns	→	→	→	↓*	→
TAD, mmHg	↑* (1m-3m)	↓*	→ raste ali ns	→	→ opada ali ns	→	→	→
MAP, mmHg	→	↑*	↓*	↑*	→	→	↓*	↓*

* p<0.05

4.8. NEŽELJENA DEJSTVA TERAPIJE SUPSTITUCIJE GVOŽĐE GLUKONATOM U PERORALNOM I INTRAVENSKOM PREPARATU

U toku 9 meseci supstitucione terapije Fe glukonatom u obliku peroralnog i IV preparata bolesnici su prijavljivali redovno neželjene reakcije tokom 9 meseci praćenja.

Primećena su sledeća neželjena dejstva (Tabela 82):

- Povraćanje pri uzimanju peroralnog preparata gvožđa kod jednog bolesnika u 5om mesecu ispitivanja, mučnine, takođe, pri uzimanju peroralnog preparata gvožđa kod 5 bolesnika (2 u prvom mesecu ispitivanja i po 1 u trećem, četvrtom i sedmom mesecu ispitivanja).
- Abdominalni bolovi su se, takođe, javili pri uzimanju peroralnog preparata kod 5 bolesnika (isti bolesnici su prijavili mučninu i abdominalne bolove).
- Hipotenzivne reakcije kod dva bolesnika koji su dobijali parenteralni preparat Fe (koje povezujemo sa brzinom davanja infuzije),
- kod dva bolesnika hipertenzivne reakcije, sa blagim skokom arterijskog krvnog pritiska, takođe, tokom davanja IV infuzije.

Ozbiljnijih neželjenih dejstava nije bilo ni kod jednog oblika supstitucije gvožđa.

Tabela 83. Neželjena dejstva na davanju IV i per os preparata gvožđa

Mesec Grupa Fe	1 PO	1 IV	2 PO	2 IV	3 PO	3 IV	4 PO	4 IV	5 PO	5 IV	6 OP	6 IV	7 PO	7 IV	8 PO	8 IV	9 PO	9 IV
než. dejstvo ↓	br	br	Br	br	br	br	br	br	br	br	br	br	br	br	br	br	br	br
alergijske reakcije	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
urtikarija – raš po telu	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
angioedem	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
anafilaktoidna reakc.	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
anafilaksa	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
hipot. reakcije	X	X	X	1	X	X	X	X	X	1	X	X	X	X	X	X	X	X
hipert. reakcije	X	X	X	X	X	2	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
epizoda tahikardije	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
abdominal bolovi	2	X	X	X	1	X	1	X	X	X	X	X	1	X	X	X	X	X
mučnine	2	X	X	X	1	X	1	X	X	X	X	X	1	X	X	X	X	X
povraćane	X	X	X	X	X	X	X	X	1	X	X	X	X	X	X	X	X	X
bolovi u grudima	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

5. DISKUSIJA

U prospektivnom randomiziranom istraživanju koje je trajalo devet meseci pratili smo uticaj terapije gvoždem u svetlu različitih modaliteta supstitucije gvožđa (intravenska prema peroralnoj nadoknadi gvožđe glukonata) u terapiji anemije rHu Epo beta i povezano sa polimorfizmom ACE genotipa II/DI i DD kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, kao i uticaj na kardiovaskularni komorbiditet kod ovih bolesnika.

Od ukupno 101 bolesnika, devetomesečno istraživanja završilo je 92 bolesnika a 9 bolesnika isključeno je iz daljeg toka istraživanja zbog eventualne greške u randomizaciji i nesaradljivosti bolesnika, od kojih su dva bolesnika transplantirana kadaveričnim bubregom, a 7 bolesnika je umrlo u toku istraživanja.

Kriterijumi za uključenje bolesnika u istraživanje su bili nivo feritina u serumu <800 ng/mL i nivo saturacije transferina gvoždem $TSAT > 15\%$, aproksimativno. Parametar za procenu pravilne randomizacije bilo je dostizanje količine hemoglobina u retikulocitima (CHR) > 26 pg/ćeliji, to je zadovoljilo 100 bolesnika.

Bolesnici su bili podeljeni postupkom slučajne randomizacije u dve terapijske grupe, prema modalitetu supstitucije gvožđa u lečenju anemije rHu Epo; tako da je polovina bolesnika dobijala peroralni Fe glukonat u dozi 50-100 mgr/dan, a druga polovina je primala intravenski preparat Fe glukonata u dozi održavanja od 100 mg, jednom u 15 dana na kraju seanse hemodijalize tokom 9 meseci. Terapija rHu Epo beta primenjena je kod svih bolesnika prema protokolu K/DIGO za lečenje anemije na hemodijalizi (53). Inicijalna doza epoetina beta od 200 IU/kg podeljena je na 3 dijalizne seanse, nedeljno, do porasta hemoglobina u krvi za 10 g/L, zatim je nastavljena terapija umanjenom doze rHu Epo beta za 25% do ciljnog hemoglobina 105-110 g/L.

Hematološki status i parametri feremije i prometa gvožđa analizirani su u tromesečnim tačkama preseka kod ukupno 92 bolesnika, podeljenih u dve grupi od po 46 bolesnika, prema protokolu devetomesečne supstitucije gvožđe glukonata. Tokom parenteralnog (IV) davanja gvožđe glukonata nije zabeležena ni jedna opisana ozbiljna neželjenu reakcija leka, a mali broj bolesnika na peroralnom gvožđu imao je prolazne gastrointestinalne smetnje.

Pored randomizacije bolesnika u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa, bolesnici su analizirani i prema polimorfizmu genotipa ACE I/D, kao dve kategorije II/ID (67 bolesnika) i DD genotip (25 bolesnika). Pokazali smo da se ukupna doza rHu Epo koju su bolesnici primali tokom devet meseci praćenja nije razlikovala između dve grupe bolesnika prema modalitetu terapije gvožđem (oralni prema IV Fe), niti je bila povezana sa I/D polimorfizmom genotipa ACE, odnosno, prema udruženim podgrupama za oba kriterijuma – način supstitucije Fe glukonata i ACE I/D genotip.

Efikasnost lečenja je bila slična između terapijskih grupa supstitucije gvožđa i polimorfizma ACE I/D u cilju održavanja preporučene vrednosti hemoglobinemije (ciljni hemoglobin 105-110 g/L). Kod 46 analiziranih bolesnika hemoglobin u krvi u prvom mesecu istraživanja u grupi na oralnom Fe iznosio je $109.88 \text{ g/L} \pm 16.64 \text{ g/L}$, a kod 46 bolesnika na IV FE $106.56 \text{ g/L} \pm 19.41 \text{ g/L}$. Posle 9 meseci terapije oralnim FE hemoglobin u krvi je iznosio $106.85 \text{ g/L} \pm 17.70 \text{ g/L}$, a posle 9 meseci IV terapije Fe $108.78 \text{ g/L} \pm 14.96 \text{ g/L}$ ($p=ns$).

Vrednosti hematoloških parametara (broj eritrocita, hemoglobin, hematokrit, srednji volumen eritrocita i srednja koncentracije hemoglobina u eritrocitima, % retikulocita) bile su slične između dve terapijske grupe supstitucije Fe, u tačkama preseka 1, 3, 6 i 9ti mesec, osim uočenih pojedinačnih razlika između grupa bolesnika. Kod bolesnika na IV supstituciji gvožđa i kod nosilaca ACE genotipa DD značajno je veći porast hemoglobinemije u trećem mesecu terapije eritropoetinom (rHuEpo), a to znači bolji hematopoezni odgovor u prva tri meseca. Savin i Hadžibulić (251) su pokazali da su modalitet terapije gvožđa i genotip ACE I/D, odnosno, prednost IV prema peroralnom Fe, kao i DD genotipa prema II/ID genotipu ACE, dva nezavisna faktora koja pomažu u ranoj stimulaciji eritropoeze. U grupi bolesnika koja je primala peroralno Fe glukonat vrednosti hemoglobina u krvi opadaju tokom prva tri meseca, dok u grupi bolesnika na IV Fe glukonatu hemoglobin u krvi raste prva tri meseca, zatim su prosečne vrednosti hemoglobina u krvi stabilne u okviru preporučenih vrednosti za bolesnike na hroničnoj hemodijalizi (105-110 g/L) u obe grupe.

Slično našim rezultatima, britanski autori Stoves i sar 2001. god (252) u randomiziranoj studiji koja je trajala 6 meseci pokazuju podjednaku efikasnost IV gvožđa sukroze (300 mg mesečno) i peroralnog preparata gvožđa sulfata (200mg

dnevno) u postizanju ciljnog hemoglobina <120 g/L sa manjim potrebnim dozama rHu Epo kod 45 predijaliznih bolesnika, sa odmaklom CKD.

U multicentričnoj randomiziranoj kontrolisanoj studiji američkih autora iz 2005. god Charytan i sar (253) na 96 bolesnika koji su peroralno dobijali 325 mg gvožđe sulfata dnevno ili ukupno 5 doza 200 mg gvožđe sukroze, parenteralno nedeljno, nije bilo razlike u koncentraciji hemoglobina u krvi između terapijskih grupa, ali je veći broj bolesnika na IV gvožđu dostigao ciljni hemoglobin u krvi >110 g/L (54.2% prema 31.35%) i viši nivo serumskog feritina.

Indijski autori Aggarwal i sar (254) u tromesečnoj randomiziranoj studiju na 40 predijaliznih bolesnika sa CKD koji su dobijali rHuEpo beta 2000 IU nedeljno, podeljenih u dve terapijske grupe gvožđa, peroralno Fe sulfat 200 mg tri puta dnevno ili intravensko Fe dekstran 100 mg na 15 dana, pokazali su značajan porast hematoloških parametara u grupi na intravenskom Fe, a značajno opadanje parametara kinetike gvožđa (serumsko gvožđe, saturacije transferina, feritin) na oralnom Fe.

Studije o primeni Fe na hemodijalizi pretežno su ispitivale IV nadoknadu Fe na hemodijalizi, a relativno mali broj studija poredio je efikasnost peroralne prema IV nadoknadi gvožđa. U najvećem broju studija saopštava se zadovoljavajuća efikasnost IV Fe i bolja efikasnost parenteralne prema oralnoj nadoknadi Fe kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, te se IV obliku suplementacije gvožđa daje prednost u svetskim vodičima dobre kliničke prakse a peroralna terapija Fe se navodi kao moguća (53,91,255).

Wingard i sar (256) u randomiziranoj studiji na 46 bolesnika koji su dobijali 4 vrste peroralnih preparata gvožđa 200 mg dnevno, u trajanju od 6 meseci, navode da je peroralno gvožđe bilo efikasno. Svi bolesnici su dostigli ciljne vrednosti hematokrita, sa malim varijacijama ostalih posmatranih hematoloških parametara i parametara feremije.

Cochrane studija (257) objavljena 2012. godine je meta analiza efikasnosti supstitucije Fe u CKD, koja uključuje 29 randomiziranih kontrolisanih studija na ukupno 2098 bolesnika. Istraživana je razlika u efikasnosti peroralne prema intravenskoj nadoknadi gvožđa, pretežno kod odraslih bolesnika. Ova meta analiza saopštava da su hematološki parametri, kao i parametri feremije, bili većih vrednosti u grupi bolesnika na parenteralnoj nadoknadi Fe u poređenju sa peroralnom nadoknadom

Fe. U devet studija koje su obuhvatile 487 bolesnika na hemodijalizi ili peritonealnoj dijalizi, pokazana je značajna redukciju doze eritropoetina u grupi bolesnika na parenteralnoj u odnosu na peroralnu terapiju gvoždem, to nije uočeno u grupi predijaliznih bolesnika sa odmaklom CKD. Sledi kratak pregled pojedinačnih studija kod bolesnika na hemodijalizi, koje su analizirane u Cochranovoj meta studiji (47, 258-270).

U kontrolisanoj randomiziranoj studiji Macdougalla i sar (271) na 37 bolesnika u predijaliznom periodu CKD, na hroničnoj hemodijalizi ili peritonealnoj dijalizi posmatrane su potrebne doze rHu Epo u odnosu na put nadoknade gvožđa, u cilju dostizanja ciljnih vrednosti hemoglobina 120 g/L. Bolesnici su podeljeni u dve terapijske grupe supstitucije gvožđa, sa parenteralnom nadoknadom (gvožđe dekstran) ili peroralnom nadoknadom (gvožđe sulfat) i kontrolnu grupu, koja nije dobijala nadoknadu gvožđa i bili su praćeni četiri meseca. Studija je pokazala značajan porast vrednosti hemoglobina i smanjenu doze rHu Epo u grupi na IV gvožđu, dok između bolesnika na peroralnom preparatu Fe i bolesnika koji nisu dobijali gvožđe nije bilo značajne razlike, ali su bile potrebne veće doze eritropoetina u grupi bez terapije gvoždem. Vrednosti feritina u serumu su ostale stabilne u grupi na IV Fe, a značajno su opadale u druge dve grupe.

U studiji Fishbanea i sar (272) iz 1995. godine praćen je efekat terapije od 100 mg IV gvožđe dekstrana na kraju 10 hemodijaliznih seansi tokom 4 meseca, kod 28 bolesnika. Značajno je povećana vrednosti hematokrita, održava se serumski feritin >100 ng/dL i smanjena je ukupna doze eritropoetina (272). U drugoj randomiziranoj studiji Fishbanea i sar (47) upoređena je efikasnost peroralne prema IV supstituciji gvožđa kod 52 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, koji su dobijali rHu Epo i imali inicijalnu saturaciju transferina TSAT >15% i serumski feritin >100 ng/mL. Autori su saopštili značajno veći porast vrednosti hematokrita i feritina, a smanjena je doza rHu Epo (za 46%) jedino u grupi na IV suplementaciji Fe u odnosu na grupu bolesnika na peroralnoj suplementaciji Fe.

U studiji Svava i sar (270) iz 1996. godine koja je trajala samo 6 nedelja došlo je do popravljavanja vrednosti hematokrita i koncentracije gvožđa u serumu u dve grupe bolesnika, na IV gvožđe oksid saharatu ili na peroralnom gvožđe sulfatu. Vrednost

TSAT značajno je porasla u grupi na IV preparatu Fe. Vrednost feritina u serumu je opadala u grupi na peroralnom Fe, dok je rasla u grupi na IV preparatu Fe.

U studiji Hussaina i sar (259) iz 1998. godine koja je trajala 3 meseca, srednje vrednosti hemoglobina i hematokrita bile su značajno veće posle tri meseca terapije IV gvoždem, a doza eritropoetina je bila 25% manja u odnosu na grupu hemodijaliznih bolesnika na peroralnoj nadoknadi gvožđa. Srednja vrednost feritina bila je veća u grupi na IV gvožđu, a nije bilo razlike u saturaciji transferina gvoždem između grupa. Zaključak ove studije je da nadoknada gvožđa intravenskim preparatom dovodi do boljeg oporavka vrednosti hemoglobina, održavanja nivoa feritina u serumu i umanjuje potrebnu dozu eritropoetina u odnosu na grupu na peroralnom preparatu gvožđa, tokom tri meseca terapije.

U studiji Lia i sar (263) iz 2008. godine, koja je trajala tri meseca, kod bolesnika na hemodijalizi koncentracije hemoglobina u krvi, feritina u serumu i saturacije transferina gvoždem značajno su veće u grupi na terapiji IV gvoždem posle 3 meseca i značajno veće u odnosu na bolesnike na peroralnom gvožđu. Potrebne doze eritropoetina bile su značajno manje u grupi na IV gvožđu.

Rezultati našeg istraživanja saglasni su sa navedenim studijama, tokom prva 3 meseca efikasnost IV Fe bila je odlična i hemoglobin u krvi značajno raste, dok na peroralnom Fe opada. U daljem toku terapije do kraja 9 meseca ne uočavaju se razlike u hematološkim efektima između peroralne i IV nadoknade Fe u protokolu primene rHu Epo na hemodijalizi. U većine pojedinačnih studija iz Cochranove meta analize značajno je kraće vreme praćenja efekata terapije Fe i rHuEpo (1 do 4 meseca) nego kod naših bolesnika (9 meseci) i ove studije jasno pokazuju prednost IV Fe prema peroralnom Fe, dok u studijama koje su trajale 6 meseci, i duže, te razlike nisu primećene ili su manje naglašene. Veoma je mali broj studija koji su u dužem periodu pratile razlike u efikasnosti intravenskog i peroralnog Fe na hemodijalizi. Naši rezultati su saglasni ranim studijama, obzirom da smo uočili da je značajno bolji hematološki odgovor kod bolesnika na IV Fe prva 3 meseca terapije u odnosu na primenu peroralnog Fe.

Pokazali smo da kod naših bolesnika koji su nosioci ACE genotipa DD ili su na parenteralnoj supstituciji gvožđe glukonatom nastaje značajno veći porast hemoglobina

u krvi u trećem mesecu terapije rHu Epo i to je izazvalo redukciju naredne doze rHu Epo. Pokazali smo da je genotip DD nezavistan faktor stimulacije eritropoeze od modaliteta (IV) supstitucije Fe.

Angiotenzin II je značajan fiziološki regulator eritropoeze, kao faktor rasta za eritroidne progenitore i zajedno sa eritropoetinom uvećava masu eritrocita (273). Nosioци genotipa DD ostvaruju veće koncentracije angiotenzina II u krvi. Povećana aktivnost ACE i angiotenzina II može da ima povoljan efekat u eritropoezi. Dodavanje angiotenzina II u kulturi peritubularnih fibroblasta iz bubrega izaziva produkciju endogenog Epo, koja se odvija i kod bolesnika na hemodijalizi.

Niži nivoi hemoglobina u krvi u grupi naših bolesnika s genotipom ACE DD u odnosu na bolesnike II/ID mogu da budu povezani sa većom inhibicijom procesa eritropoeze usled primenjene terapije ACE inhibitorima, u cilju kontrole krvnog pritiska, a hipertenzija se upravo očekuje zbog većeg stimulatornog efekta genotipa DD na eritropoezu i inicijalnog porast hemoglobina i hematokrita, u prva 3 meseca terapije rHuEpo i supstitucije Fe. Značajno je i dejstvo veće koncentracije angiotenzina II kod bolesnika sa DD genotipom na hipertenziju.

Ukupna doza rHu Epo beta koju su dobijali naši bolesnici tokom devet meseci istraživanja nije se razlikovala u odnosu na polimorfizam genotipa ACE I/D. To znači da se pri istoj dozi rHu Epo postiže značajno veći porast hemoglobina u prva 3 meseca kod nosioca genotipa DD, odnosno, da je za određen ciljni hemoglobin u prva 3 meseca efektivna eritropoeza postignuta manjom dozom eritropoetina kod DD genotipa ACE.

Kiss i saradnici su 2015. Objavili, na osnovu studije preseka, koja je obuhvatila 660 bolesnika na hemodijalizi da nosioци ACE genotipa DD, koji su na terapiji ACE inhibitorima imaju niži hemoglobin u krvi i veći indeks rezistencije na eritropoetin od bolesnika genotipa II (274).

U studiji japanskih autora Hatanoa i sar (242) iz 2000. godine kod 91 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi pokazan je uticaj polimorfizma ACE genotipa I/D na potrebnu dozu rHu Epo za postizanje ciljnih vrednosti hematokrita (0.30) kada bolesnici primaju ACE inhibitore. Upoređene su doze eritropoetina sa vrednostima hematokrita i koncentracijom eritropoetina u plazmi kod dve grupe bolesnika, koja je dobijala ACE inhibitore (n=24) i rHu Epo i grupe koja nije primala ACE inhibitore (n=67). Veća doza

eritropoetina bila je potrebna u grupi koja je dobijala ACE inhibitore (102.7 ± 45.4 prema 57.8 ± 55 IU/kg/nedeljno), a postignuta vrednost hematokrita bila je manja ($28.7 \pm 2.9\%$ prema $31.1 \pm 3.7\%$). Nije bilo značajnih razlika u dozi eritropoetina i vrednosti hematokrita u odnosu na polimorfizam ACE DI/II prema DD, u okviru grupa bolesnika sa i bez terapije ACE inhibitorom. Međutim, bolesnici sa ACE genotipom DD imali su veću koncentraciju eritropoetina u plazmi u odnosu na nosioce genotipova ACE DI i II. Ovo ukazuje na pogoršanje anemije kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi koji dobijaju ACE inhibitore, usled supresije produkcije endogenog eritropoetina.

U studiji Varagunama i sar (44) koja je poredila potrebne doze rHu Epo kod bolesnika na peritonealnoj dijalizi (CAPD) u odnosu na polimorfizam ACE genotipa, praćeno je 14 bolesnika sa genotipom II, 29 bolesnika sa genotipom ID i 13 bolesnika sa genotipom DD. Studija je pokazala značajno veće doze rHu Epo u grupi bolesnika sa ACE genotipovima DI i II (144 ± 15 IU/kg/nedeljno) u odnosu na DD genotip (87 ± 9 IU/kg/nedeljno). Ova razlika u dozi potrebnog rHu Epo između genotipova I/D nije bila povezana sa godinama, serumskim feritinom, CRP, iPTH, Kt/V, dužinom dijaliziranja, folatima, osnovnom bolešću bubrega, ili terapijom ACE inhibitorima.

Parametri prometa gvožđa na supstituciji oralnim Fe prema IV Fe kod bolesnika na hemodijalizi na terapiji rHu Epo, tokom 9 meseci istraživanja, kod naših bolesnika se nisu menjali u smislu pojave anemije zbog deficijencije gvožđa. Efekti oba modaliteta terapije Fe na promet Fe su prema klasičnim parametrima bili zadovoljavajući i u prilog dostizanja potrebne saturacije Fe za stimulaciju rHu Epo kod bolesnika na hemodijalizi. Uočene su i izvesne razlike u promenama parametara prometa Fe tokom 9 meseci terapije oralnim Fe prema IV Fe.

Promene u prometu Fe kod naših bolesnika na peroralnoj i IV supstituciji Fe su u skladu sa ranije navedenim promenama u nivoima klasičnih parametara prometa Fe u randomiziranim studijama o efikasnosti peroralne i IV supstitucije Fe na hemodijalizi, koje su obuhvaćene u Cochranovoj meta analizi (47, 258-270).

Nivoi serumskog gvožđe (sFe) bili su stabilni u grupi bolesnika koji su dobijali IV gvožđe glukonat na kraju seanse hemodijalize jednom u 15 dana, slično kao i u drugoj grupi bolesnika na svakodnevnom peroralnom gvožđe glukonatu. Bolesnici na IV Fe

imali su kasni porast sFe i ukupnog kapaciteta za vezivanje Fe (TIBC) od 6 do 9 meseca terapije, a bolesnici na oralnom Fe rani pad sFe, a porast TIBC od prvog do 3eg meseca. Saturacija transferina gvoždem (TSAT) je zadovoljavajućih prosečnih vrednosti u obe terapijske grupe (prosečno 30 +/-2%), izrazito stabilna na IV Fe tokom 9 meseci terapije, a opadajućih vrednosti na peroralnom Fe tokom prvog trimestra terapije, zatim stabilna.

Naši bolesnici, koji su dobijali parenteralno gvožde glukonat, ostvaruju stabilne vrednosti ukupnog kapaciteta seruma za vezivanje gvožđa (TIBC), saturacije transferina gvoždem (TSAT) i vrednosti procenta hipohronih eritrocita. Bolesnici na peroralnoj supstituciji Fe imaju porast TIBC tokom 9 meseci terapije, to govori u prilog dobre resorpcije peroralnog preparata Fe glukonata iz digestivnog trakta u uslovima efikasne dijaliziranosti naših bolesnika ($Kt/V >1.2$), (275). Nije bilo značajne razlike u nivou feritina između dve terapijske opcije supstituciji Fe tokom 9 meseci, oralno prema IV Fe, nivoi feritina su u okviru preporučenih vrednosti.

U našem istraživanju oba terapijska protokola supstitucije Fe bila su podjednako efikasna u primeni slične ukupne doze rHu Epo beta u lečenju anemije na hemodijalizi. Međutim, uočava se tendencija porasta početne medijane serumskog feritina (3x) u devetom mesecu kod bolesnika na IV Fe, dok se medijana serumskog feritina održava na sličnom nivou tokom 9 meseci terapije peroralnim Fe. Naime, porast feritina u serumu uočen je u poslednjem trimestru za sve bolesnike, ali je taj porast značajno veći u grupi na IV Fe, nego na terapiji peroralnim Fe. To može da ukaže na opasnost preteranog nakupljanja rezervnog Fe kod dugotrajne terapije IV Fe, što nije primećeno kod dugotrajne terapije peroralnim Fe.

Anemija zbog deficita Fe (*engl. iron deficient anemia, IDA*) izaziva deficijentnu eritropoezu koja se definiše kada je relativni broj hipohromnih eritrocita (HCR) $>2,5\%$, količina hemoglobina u retikulocitima (CHr) $<26\text{pg}/\text{ćeliji}$, solubilni transferinski receptor (sTfR) $>4,6\text{mg}/\text{L}$ i relativni broj retikulocita (Rtc) $<0,5\%$ (276).

Praćenje vrednosti navedenih parametara (HRC, CHr, sTfR, %Rtc) kod naših bolesnika na osnovu 4 preseka, tokom 9 meseci terapije Fe, pokazuju da su oba modaliteta nadoknade gvožđa (oralno Fe prema IV Fe) sa dobrom saturacijom Fe i da obezbeđuju adekvatne uslove za optimalnu eritropoezu. U svim tačkama preseka (1, 3, 6 i 9ti mesec) srednje vrednosti HCR%, CHr, sTfR, %Rtc u grupi bolesnika koji su

dobijali parenteralno gvožđe glukonat govorili su u prilog zadovoljavajuće supstitucije gvožđa za optimalnu eritropoezu. U grupi bolesnika koji su dobijali peroralni preparat gvožđe glukonata srednje vrednosti parametara za procenu feremije bile su takođe zadovoljavajuće i ne govore u prilog deficijentne supstitucije Fe, niti za razvoj IDA. Nepovoljno, srednja vrednost hipohromnih retikulocita (HRC%) u 6om mesecu premašuje preporučene vrednosti i u prilog je eritropoezi u uslovima nedostatka gvožđa. Srednji volumen retikulocita (MCVr) opadao je između 3eg i 6og meseca na peroralnoj terapiji Fe. Klinička primena retikulocitnog indeksa srednji volumen retikulocita (MCVr) retko je ispitivana. Uočen je brzi porast MCVr posle nadoknada gvožđa kod bolesnika koji imaju nedostatak rezervnog Fe, odnosno, prazne depoe gvožđa, a MCVr ubrzano opada u slučaju sideropenijske eritropoeze (127). Kako su prosečne vrednosti CHr bile u sigurnosnom polju $> 26\text{pg}/\text{ćeliji}$, u svim tačkama preseka kod naših bolesnika na peroralnom Fe, i shodno literaturnim saopštenjima Cullen i sar (276) i Schaefer i sar (277) da je sadržaj hemoglobina u retikulocitima senzitivniji marker feremije od relativnog broja hipohromnih eritrocita, možemo da zaključimo da su naši bolesnici na oralnom Fe ostvarili adekvatnu saturaciju gvožđa i u 6om mesecu.

Konačno, porast relativnog broja retikulocita odslikava aktuelnu ili skorašnju produkciju eritrocita na terapiji rHu Epo (118) i smanjenje (relativnog) broja retikulocita može da nastane ne samo u deficijenciji gvožđa, već i zbog nedostatka vitamina B12 ili folne kiseline.

Kod naših bolesnika količina hemoglobina u retikulocitima se nije razlikovala između terapijskih grupa Fe (medijane u 4 merenja CHr = $28\pm 2\text{ pg}/\text{ćel}$), iako je bila veća u grupi na peroralnoj supstituciji gvožđa (statistički bez značaja). CHr je marker dostupnosti funkcionalnog gvožđa u kostnoj strži i kada je količina CHr mala, ukazuje na funkcionalnu deficijenciju Fe u terapiji rHu Epo. CHr je podesan marker funkcionalnog Fe kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi na početku primene nadoknade gvožđa. Preporučene vrednosti CHr kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi su $27.5\pm 2.8\text{ pg}/\text{ćeliji}$ (110) i pokazali smo da su kod naših bolesnika nivoi CHr bili u okviru preporučenih vrednosti. Vrednosti CHr $< 29\text{ pg}/\text{ćel}$ govore u prilog sideropenijske eritropoeze. Gotovo 48 sati posle primene IV gvožđa dolazi do oporavka

vrednosti CHr i kada je bolesnik na terapiju rHu Epo, to ukazuje da je ostvaren pozitivan odgovor eritroidne stimulacije (119).

Pokazali smo da vrednosti koncentracije solubilnog transferinskog receptora (sTfR) u grupi naših bolesnika na peroralnom Fe blago rastu, dok na IV Fe blago opadaju za 9 meseci terapije, u istom smislu se menjao indeks sTfR prema feritinu tako da je razlika u 9 mesecu terapije značajna između oralne terapije Fe i IV terapije Fe. Porast vrednosti sTfR u serumu govori u prilog deficijencije gvožđa, a opadanje sTfR ukazuje na zadovoljavajuću količinu Fe ili nagomilavanje gvožđa u organizmu.

Odnos koncentracije transferinskog receptora (sTfR) i feritina (TfR1/feritin, *R/F ratio*, mg/kg) procenjuje depoe gvožđa u organizmu (rezervno Fe), (133,134). Indeks sTfR/feritin se povećao na peroralnoj terapiji Fe, a smanjio na terapiji IV Fe posle 9 meseci kod naših bolesnika.

Medijana indeksa sTfR/feritin na peroralnom Fe se povećala od 1.25 u prvom mesecu na 1.39 u 9 mesecu, što je blizu kriterijuma za razvoj anemije zbog nedostatka Fe (IDA). Kod većine bolesnika se radilo o smanjenim depoima Fe. Zaključili smo da na dugotrajnoj terapiji oralnim Fe kod bolesnika na hemodijalizi tokom terapije rHu Epo nema opasnosti od preteranog nagomilavanja rezervnog Fe, ali postoji ograničenje apsorpcije Fe u gastrointestinalnom traktu (278).

U grupi koja je dobijala IV Fe medijana indeksa sTfR/feritin je iznosila 1.46 u prvom mesecu i 1.16 u 9om mesecu. Kako kod ovih bolesnika opada sTfR radilo se o povećanim depoima Fe, što je opasnost kod dugotrajne terapije IV Fe.

Randomizirana studija Agarwala i sar (279) iz 2015. godine je kod 136 predijaliznih bolesnika sa CKD u stadijumu 3 ili 4 uporedila parenteralnu prema peroralnoj supstituciji Fe, tokom 8 nedelja. Zaključeno je da je parenteralna terapija gvožđa, u cilju korekcije anemije u predijaliznom periodu, povezana sa više neželjenih dejstava iz grupe glavnih neželjenih kardiovaskularnih događaja (MACE) i nosi veći rizik od infekcija.

U američkoj studiji Bailiea i sar (280) iz 2015. godine saopšteni su rezultati udruženosti veće doze parenteralnog gvožđa kod bolesnika na hemodijalizi i kliničkog ishoda na osnovu analize 32435 hemodijaliznih bolesnika iz 12 zemalja, praćenih u periodu od 2002-2011. godine u okviru studije DOPS (Dialysis Outcomes and Practice

Patterns Study). Rezultati su sagledani u odnosu na dozu parenteralnog gvožđa u toku prva 4 meseca studije. Mortalitet bolesnika koji su dobijali <200 mg IV gvožđa mesečno (100-199 mg), u odnosu na one koji su dobijali dozu 200-299 mg IV gvožđa mesečno, bio je sličana. Mortalitet je značajno manji u odnosu na bolesnike koji su dobijali 300-399 mg IV gvožđa mesečno i značajno manji u odnosu na one koji su dobijali više od 400 mg IV gvožđa mesečno.

Weissa i Kronenberg (281) su 2015. godine objavili rezultate DOPS studije posle 2 godine praćenja. Zaključeno je da su bolesnici koji su na hemodijalizi dobijali od 300 do 399 mg IV gvožđa mesečno ili ≥ 400 mg IV gvožđa mesečno bili pod većim rizikom (13-18%) od smrtnog ishoda, u poređenju sa bolesnicima koji su primali samo 100-199 mg IV gvožđa mesečno. Nije bilo razlike u specifičnim uzrocima mortaliteta.

Iako DOPS studija nije mogla da pokaže jasnu povezanost (doze) supstitucije IV Fe sa većim rizikom od smrtnog ishoda zbog kardijalnih događaja (MACE) ili infekcije, naknadne analize DPOS studije su ukazale na neophodnost preispitivanja preporuka u terapiji anemije kod bolesnika na hemodijalizi i zaključeni su novi stavovi u smislu optimizovanja doze parenteralnog gvožđa, pojedinačno, za svakog bolesnika na hroničnoj hemodijalizi sa anemijom. To je otvorilo poglavlje novih modaliteta supstitucije Fe na hemodijalizi, preko dijalizne tečnosti, ali aktuelizuje se i peroralna supstitucija Fe, samostalno, ili u kombinaciji sa IV supstitucijom Fe, ili oralnim eritropoetinom.

Kuragano i sar (282) objavljuju 2014. godine rezultate TRAP studije, koja je sprovedena na 1095 hemodijaliznih bolesnika iz 60 dijaliznih centara smeštenih u 9 japanskih regija, koja je trajala tri godine, u periodu od 2007. do 2010. godine. Praćene su potrebne doze eritropoetina u različitim protokolima supstitucije gvožđa (IV, peroralno, peroralno i IV Fe ili bez supstitucije Fe), u cilju dostizanje hemoglobina u krvi 100-110 g/L. Rizik od neželjenih kardiovaskularnih događaja (MACE), infekcije i broja hospitalizacija bio je značajno veći kod bolesnika koji su dobijali visoke doze parenteralnog gvožđa u odnosu na one koji nisu dobijali nadoknadu gvožđa. Rizik od infekcije bio je značajno veći kod bolesnika na niskim dozama parenteralnog gvožđa u odnosu na one koji nisu dobijali nadoknadu gvožđa. Nivoi hemoglobina u 1, 3, 6, 9, 12, 21 i 24om mesecu praćenja bili su značajno veći u grupi bolesnika koji su bili na

manjim dozama rHu Epo, nego u grupi na većim dozama rHu Epo. Rizik od infekcije i hospitalizacija bio je značajno veći u grupi na većim dozama rHu Epo.

Kod naših bolesnika ispitivali smo kardiološke karakteristike parametrima kvantitativne ehokardiografije: relativna debljina zida leve komore (RWT), ejectiona frakcija leve komore (EF), stepen promene indeksa mase leve komore na površinu tela (LVMI) i geometrija relativne debljine leve komore (engl. *geometry RWT*) u prvom i devetom mesecu. U obe grupe bolesnika na peroralnom i na IV Fe kontrola hematoloških parametara anemije bila je slična sa prosečnim ciljnim hemoglobinom u krvi 105-110 gr/l. Pokazali smo da se relativna debljina zida leve komore (RWT) nije značajno promenila posle 9 meseci peroralne supstitucije Fe (medijana RWT u prvom i u 9om mesecu iznosila je 0.44 cm), slično kao na IV supstituciji Fe (medijana RWT u porastu sa 0.45 na 0.48 cm, $p>0.05$). Ejectiona frakcija (EF) leve komore kod naših bolesnika na peroralnoj supstituciji Fe glukonata opada (medijana EF sa 60 na 55%, $p<0.05$), dok se na IV supstituciji Fe nije značajno promenila posle 9 meseci (medijana EF ostaje 55%, $p>0.05$). Kod polovine bolesnika na peroralnom Fe, a kod 65% bolesnika na IV Fe EF leve komore se ne menja, a po 13% bolesnika na oba modaliteta supstitucije Fe povećalo je EF leve komore, posle 9 meseci terapije.

Obrnuto, indeks mase leve komore na jedinicu površine tela (LVMI) pogoršao se na IV terapiji Fe, a nepromenjen je na peroralnom Fe, i kao veći relativni broj naših bolesnika zadržava normalan nalaz LVMI na IV Fe nego na peroralnim Fe (58.82% prema 50%). Konačno, geometrija leve komore nije se značajno promenila na IV Fe i 94.1% naših bolesnika zadržalo je koncentričnu hipertrofiju LK, dok se geometrija leve komore pogoršavala na peroralnom Fe ($p<0.05$) i samo 64.7% bolesnika ostaje sa koncentričnom hipertrofijom LK, a jedna trećina pokazuje progresiju u ekscentričnu hipertrofiju LK. Slično našim nalazima, Bailie i sar (280) i Weiss i Konnenbreg (281) analizirajući studiju DOPS, objavljuju 2015. godine, da nije jasno uočen poremećaj srčane funkcije, niti se povećava smrtnost zbog glavnih kardiovaskularnih događaja na dugotrajnoj terapiji IV Fe (280,281).

Kirkpantura i sar (283) pokazali su da oporavak anemije kod bolesnika na hemodijalizi na terapiji rHu Epo i supstituciji IV gvožđa oporavlja kardiološki status bolesnika. U ovoj studiji se ispitivao neposredni efekat oporavka anemije na kardiološki

status bolesnika na hemodijalizi, dok je naše istraživanje ispitivalo efekat 9 mesečog održavanja korigovane anemije na kardiološki status. U studiji Kirkpantura i sar (283) praćeni su efekti rHu Epo na popravljjanje kardioloških parametara i mogućnost reverzije poremećaja u geometriji leve komore kod 30 bolesnika, na hroničnoj hemodijalizi. Posle 6 meseci terapije rHu Epo oporavka anemije, sa porastom hemoglobina u krvi sa 88 ± 66 g/L na 108 ± 70 g/L, pratio je značajan porast ejeckione frakcije ($62.26 \pm 6.84\%$ vs. $69.90 \pm 8.98\%$, $p < 0.05$) i smanjenje mase leve komore ($LVMi = 148.2 \pm 46.5$ g/m² vs. 93.6 ± 17.2 g/m², $p < 0.05$). Vrednosti krvnog pritiska značajno su se povećale (TAS 125.16 ± 21.02 mm Hg na 134.36 ± 23.98 mm Hg; TAD 77.40 ± 14.47 mm Hg na 83.26 ± 14.89 mm Hg, $p < 0.05$). I pored toga nije ostvarena regresija hipertrofije LK.

U japanskoj studiji Tagawa i sar (284) ispitivan je efekat korekcije teškog anemijskog sindroma (HCT $19.2 \pm 1.5\%$) rHu Epo kod 28 bolesnika na hemodijalizi na hemodinamske parametre. Ultrazvuk srca je urađen na početku terapije i ponovljen posle oporavka anemije do vrednosti hematokrita $30.0 \pm 1\%$. Uočena je značajno smanjena endodijastolna debljina LK (LVEDD= 51.0 ± 6.1 na 48.8 ± 5.8 i 48.3 ± 7.1 mm), bez promene debljine zida – dijametra na kraju sistole i debljina interventrikularnog septum na kraju dijasole, kao ni relativna debljina zadnjeg zida LK. Krvni pritisak je ostao stabilan. Zaključeno je da oporavak anemije povoljno utiče na funkciju leve komore i ima pozitivan uticaj na oporavak kvaliteta života hemodijaliznih bolesnika.

Pascual i sar (285) ispitivali su efekat terapije rHu Epo na ehokardiološke karakteristike LK kod 15 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, tokom godinu dana terapije rHu Epo. Bolesnici su bili sa izraženom anemijom na početku studije (hematokrit $19.7 \pm 2.5\%$), a posle jednogodišnje terapije rHu Epo došlo je do oporavka hematokrita na $32.2 \pm 3.5\%$ i oporavka vrednosti ehokardiografskih parametara. Smanjili su se LVMi (210.7 ± 48.3 na 139 ± 50 g/m²), dijametar zida leve komore na kraju dijasole (4.89 ± 0.44 na 4.57 ± 0.64 cm), debljina interventrikularnog septuma na kraju dijasole (1.42 ± 0.33 na 1.07 ± 0.13 cm) i debljine zadnjeg zida LK (1.28 ± 0.21 na 1.01 ± 0.11 cm). LVMi je bio veći u grupi hipertenzivnih bolesnika u odnosu na normotenzivne bolesnike pre primene rHu Epo (235.2 ± 40 prema 182.7 ± 43.1 g/m²) i značajno se smanjuje LVMi posle godinu dana terapije rHu Epo u obe grupe (28.5% i

41.4%). LVMi je ostao veći u grupi hipertenzivnih bolesnika (168.5 ± 0.9 prema 106.7 ± 24 g/m²). Zaključak ove studije je da korekcija anemije terapijom rHu Epo kod bolesnika na hemodijalizi može da dovede do regresije hipertrofije LK.

U studiji Foley i sar (286) koja je trajala 48 nedelja, u cilju dostizanja vrednosti hemoglobina 100-135 gr/l 146 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, dobijali su rHu Epo i nadoknadu gvožđa i posmatrane su promene LVMi i geometrije LK. Nije pokazana povezanost između dostizanja ciljnog hemoglobina i suzbijanja anemije sa oporavkom ehokardiografski verifikovane koncentrične hipertrofije LK, niti je došlo do oporavka geometrije LK u kategoriji ekscentrične hipertrofije LK.

U studiji Londona i sar (287) 159 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi koji su pretežno (90% bolesnika) imali hipertrofiju LK primali su antihipertenzivnu terapiju i rHu Epo godinu dana. Serijskim praćenjem ehokardiografskih parametara uočena je regresija hipertrofije LK kod 48% bolesnika, progresija kod 22%, a nepromenjen nalaz je bio u 32% bolesnika.

U grupi naših bolesnika sa ekscentričnom hipertrofijom LK (u geometriji srca RWT kategorija teškog poremećaja) koji su bili na peroralnoj supstituciji gvožđa poboljšanje nalaza posle 9 meseci ostvaruje 33,3% bolesnika, a to je manje u odnosu na 38,5% bolesnika na IV gvožđu, koji su takođe poboljšali nalaz prelaskom u koncentričnu hipertrofiju LK. Takođe, manji broj bolesnika na oralnom Fe zadržava normalan nalaz geometrije srca, prema bolesnicima na IV Fe (44,4% prema 50%). U kategoriji koncentrične hipertrofije ostaju gotovo svi bolesnici (94,11%) na IV Fe, a samo 64,70% bolesnika na peroralnom Fe posle devet meseci terapije. Rezultati našeg istraživanja su u prilog poboljšanja geometrije srca RWT u grupi bolesnika na IV gvožđu, posle devet meseci terapije.

Slično našim rezultatima, prelasci bolesnika između pojedinih kategorija poremećaja geometrije leve komore pokazani su u velikoj studiji Eckardt i sar (288) na 603 predijalizna bolesnika u 3 i 4om stadijumu CKD, koji su bili podeljeni u dve grupe, u odnosu na stepen korekcije anemije, tako da je primenom rHu Epo beta postignuta korekcija hemoglobina do 130-150 g/L u prvoj grupi, a delimična korekcija hemoglobina do vrednosti 105-115 g/L u drugoj grupi. Nije bilo značajnih ehokardiografskih promena u parametrima hipertrofije LK i LVMi, dok se geometrija

LK menjala značajno u obe grupe bolesnika. Promene u geometriji leve komore između grupa nisu se značajno razlikovale, ali pokazuju veliku fluktuaciju između kategorija. Kod bolesnika dve grupe koji su na početku imali normalnu geometriju leve komore 61.7% i 64.9% zadržavaju normalan nalaz posle dve godine, 17.0% i 17.5% je u kategoriji koncentričnog remodelovanja, a 15.8% i 21.3% razvija (ekscentričnu) hipertrofiju LK. Kod bolesnika dve grupe koji su imali hipertrofiju LK na početku studije, 56.5% i 63.2% ostaje u kategoriji koncentrične i ekscentrične hipertrofije LK posle dve godine, a 25.0% i 32.2% popravljaju nalaz u normalnu geometriju srca, 9.7% i 10.3% prelazi u kategoriju koncentričnog remodelovanja, 33.2% i 42.3% bolesnika koji su na početku bili u kategoriji koncentrične hipertrofije LK pogoršavaju nalaz i prelazi u kategoriju ekscentrične hipertrofije LK. Mali broj popravljaju nalaz i 8.8% i 9.5% prelazi iz ekscentrične hipertrofije LK u koncentričnu hipertrofiju LK.

U studiji Dimitrijević i saradnika (289) na 116 hemodijaliznih bolesnika koji su posmatrali HLK kao nezavisni faktor morbiditeta i mortaliteta, objavljeni su sledeći rezultati. Kod 92% bolesnika uočena je abnormalnost geometrije leve komore, uz prisustvo hipertrofije LK kod 81% bolesnika. Dominirala je ekscentrična HLK (57 bolesnika; 49%). Koncentrična HLK je imalo 37 (32%) bolesnika, normalnu geometriju 9 (7%) bolesnika, a koncentrično remodelovanje 13 bolesnika (11%). Kod bolesnika sa koncentričnom i ekscentričnom HLK anemijski sindrom bio je izraženiji u odnosu na grupu sa normalnom geometrijom (hemoglobin 103 +/- 14 g/L i 106 +/- 1 g/L, prema 119 +/- 14 g/L), $p < 0.001$. Srednji arterijski pritisak kod bolesnika sa HLK bio je značajno viši (95 +/- 10 mmHg) u odnosu na grupu sa normalnom geometrijom i koncentričnim remodelovanjem (81.6 +/- 12.3 i 80 +/- 11.8 mmHg, $p < 0.001$).

Kod naših bolesnika nije uočena promena zadnjeg zida LK (RWT) posle 9 meseci terapije između nosioca ACE genotipa II, ID ili DD, medijana RWT se blago snižavala u ACE genotipu DD, a povećavala u grupi ACE II, ID. Posle 9 meseci terapije, kod 54 bolesnika sa DD genotipom, 12 bolesnika je poboljšalo ejectionu frakciju LK, a 26 je pogoršalo EF i razlika je bila statistički značajna ($p = 0.020$).

U grupi 67 nosioca ACE genotipa II ili DI, između prvog i 9og meseca, došlo je do pogošanja vrednosti EF leve komore kod 19 bolesnika (28.36%), EF se povećala kod 10 (14.92%) bolesnika, a kod 38 (56.71%) bolesnika ostala je nepromenjena. U grupi ACE

genotipa DD kod 16 od 25 (60%) bolesnika nije bilo promene u EF leve komore, kod 2 (8%) došlo je do povećanja EF, a kod 8 (32%) EF je manja posle 9 meseci terapije. Promene u kategorijama LVMi kod bolesnika iz grupe ACE genotip II, DI od prvog do devetog meseca bile su statistički značajne ($p=0.022$) u smislu pogoršanja LVMi, slično kao u grupi bolesnika sa ACE genotipom DD ($p=0.034$). Od 10 bolesnika sa DD genotipom koji su imali koncentričnu hipertrofiju srca, posle 9 meseci 70% održava koncentričnu hipertrofiju, a 30% pogoršava nalaz progresijom u ekscentričnu hipertrofiju. Od 24 bolesnika sa II/DI genotipom 83.3% zadržava koncentričnu hipertrofiju posle 9 meseci, a 16.7% bolesnika proglašavaju nalaz u ekscentričnu hipertrofiju.

Studija japanskih autora pratila je uticaj polimorfizma ACE genotipa I/D na geometriju LK i uticaj ACE genotipova na mortalitet kod 106 hemodijaliznih bolesnika sa dijabetesom koji su počeli lečenje hemodijalizama. Nije uočena razlika u LVMi i RWT u sve tri grupe ACE genotipova. Mortalitet kod bolesnika sa ACE genotipom DD bio je značajno veći u odnosu na bolesnike sa ACE DI i II genotipom (rizik 2.318; $p=0.043$), koji nije bio povezan sa vrednostima mase LK i RWT na početku lečenja hemodijalize, ali su to bili uočeni nezavisni faktori rizika za preživljavanje bolesnika (290).

Takođe, u studiji Nagahara i sar (291) nije uočena korelacije hipertrofije LK kod bolesnika na hemodijalizi i polimorfizma ACE D/I. Kod 80 hemodijaliznih bolesnika uočena je korelacija LVMi sa nivoom serumskog kreatinina, hipertenzijom pre i posle seanse hemodijalize i interdijaliznim donosom, ali nije bilo povezanosti sa polimorfizmom u genotipu ACE DI/II i DD.

Prosečne vrednosti dijastolnog, sistolnog i srednjeg krvnog pritiska bile su veće u grupi nosioca genotipa ACE II, DI nego ACE DD, što ukazuje na bolju kontrolu krvnog pritiska u nosioca ACE DD genotipa u našem istraživanju (koji su imali nižu koncentraciju hemoglobina u krvi). Bolesnici na IV Fe imali su nešto veće vrednosti sistolnog krvnog pritiska, tokom 9 meseci praćenja.

Studija Osona i saradnika (292) istraživala je odnos polimorfizma ACE gena i hipertrofije leve komore kod bolesnika na hemodijalizi. Ehokardiografski parametri leve komore kod ovih bolesnika nisu bili razičiti u odnosu na godine, parametre krvne slike

(stepen anemije, vrednosti hematokrita) i krvni pritisak između pojedinog polimorfizma ACE genotipa DD, ID i II. Najvažniji faktor za nastanak hipertrofije LK bio je visina sistolnog krvnog pritiska, koji koreliše sa vrednostima debljina zida leve komore i indeks mase leve komore (LVMi). Kod bolesnika koji nemaju hipertenziju učestalost hipertrofije interventrikularnog septuma i hipertrofije LK (LVMi >145 g/m²) bila je značajno veća kod nosioca ACE DD genotipa. Zaključili su da ja ACE genotip DD faktor razvoja hipertrofije LK kod bolesnika na hroničnoj hemodijalizi, nezavisno od nepovoljnog dejstva povišenog sistolnog pritiska.

Uloga rHu Epo u kombinovanim stanjima poremećaja bubrega i srca (renokardijalni sindrom) ostaje i dalje nepoznanica, iako je više studija na manjem broju bolesnika pokazalo pozitivne efekte primene rHuEpo na anemiju kod bolesnika sa srčanom insuficijencijom, u smislu većeg kapaciteta fizičke aktivnosti, popravljanjem oksigenacije tkiva, kada je veća koncentracija hemoglobina u krvi (293). I pored toga, preživljavanje ovih bolesnika nije poboljšano, kao što povišen endogeni eritropoetin u hroničnoj srčanog insuficijenciji ne smanjuje progresiju bolesti (294).

Kod bolesnike sa CKD veći broj studija daju prednost upotrebi rHuEpo u cilju korekcije anemije, ali tri velike multicentrične studije (u fazi III) iz 2006. i 2009. godine saopštavaju negativne ishode i nagovestile su otvaranje mnogih pitanja o budućoj upotrebi agenasa stimulacije eritropoeze (Cardiovascular Risk Reduction by Early Anaemia Treatment with Epoetin Beta trial (CREATE), Trial to Reduce Cardiovascular Events with Aranesp Therapy (TREAT), Correction of Hemoglobin and Outcomes in Renal Insufficiency (CHOIR), (51,52,295). Zaključci ovih studija su da rana korekcija anemije kod bolesnika sa CKD ne dovodi do smanjenja kardiovaskularnih komplikacija, a kod bolesnika sa dijabetesom i CKD tretiranje umerene anemije sa ESA dovodi do povećane incidence moždanog udara. Treća studija CHOIR saopštila je da veće vrednosti hemoglobina kod bolesnika sa CKD nose veći rizik od loših ishoda, uključujući smrtni ishod, veći broja hospitalizacija zbog srčanog popuštanja ili infarkta srca. Uzimajući u obzir da dugotrajna terapija IV gvoždem nosi dodatne rizike oksidativnog stresa, ateroskleroze i inflamacije, danas se pored preporučene snižene vrednosti ciljne hemoglobinemije (105-110 g/L), a to znači ograničenog oporavka anemije kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize, sa razlogom aktuelizuje

upotreba oralnog Fe. Naše istraživanje predstavlja doprinos novim strategijama u (dugotrajnom) lečenju anemije, koji obezbeđuju veću sigurnost za bolesnika na hemodijalizi.

6. ZAKLJUČCI

Analiza uticaja modaliteta supstitucije gvožđa (per os prema IV) tokom 9 meseci i ACE polimorfizama I/D na kontrolu anemije eritropoetinom beta i kardijalni komorbiditet kod 92 bolesnika na hroničnoj hemodijalizi pokazuje:

1. Oba modaliteta supstitucije gvožđa (Fe), peroralni gvožđe glukonat ili intravenska terapija gvožđe glukonom su podjednako efikasna u kontroli anemije eritropoetinom beta kod bolesnika na hemodijalizi u postizanju referentne hemoglobinemije (105 g/L), tokom 9 meseci praćenja.
2. Kod bolesnika na IV supstituciji gvožđa (Fe) i kod nosilaca ACE genotipa DD značajno je veći porast hemoglobinemije u trećem mesecu terapije eritropoetinom (rHu Epo), modalitet terapije gvoždem i genotip ACE I/D su dva nezavisna faktora koja pomažu u ranoj stimulaciji eritropoeze.
3. Ukupna doza rHuEpo koju su primali bolesnici tokom devet meseci praćenja nije se razlikovala između dve grupe bolesnika prema načinu davanja terapije gvoždem (oralno prema IV Fe), niti je povezana sa I/D polimorfizmom genotipa ACE, odnosno, prema udruženim subgrupama za oba kriterijuma – modalitet supstitucije Fe glukonata i polimorfizam I/D ACE genotip.
4. Razlika usled puta primene gvožđa (Per os prema IV) u postizanju referentne feremije, u nivoima raspoloživog i rezervnog gvožđa nisu bile značajne, na osnovu analize niza parametara prometa Fe i efikasne eritropoeze:
 - 4.a. Procenat hipohromnih eritrocita bio je veći u grupi na peroralnom Fe prema grupi na IV Fe (odnos medijana blizu 1.3), ta razlika nije bila značajna. Hipohromni eritrociti su blago opadali na peroralnoj terapiji Fe u 6om i u 9om mesecu i dostižu medijanu 0.79%, dok su stabilni na terapiji IV Fe, sa ishodnom medijanom 0.98% u trećem trimestru, to ukazuje na visoku saturaciju Fe prema aktuelnoj potrebi za datu dozu eritropoetina beta, odnosno, prema jačini stumulacije eritroidne loze.
 - 4.b. U grupi na IV gvožđu serumsko Fe je stabilno tokom studije (sa povećanjem u poslednjem trimestru), a u grupi na peroralnom gvožđu uočeno je opadanje serumskog Fe na početku terapije, zatim je stabilno.

4.c. Grupa Per os Fe imala je niži početni ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa (TIBC) koji se značajno povećavao tokom terapije Fe, dok je TIBC dugo nepromenjen na IV Fe i ostvaruju odloženi porast u trećem trimestru terapije.

4.d. Saturacija transferina gvoždem (TSAT) je zadovoljavajućih prosečnih vrednosti u obe terapijske grupe, izrazito stabilna na IV Fe tokom 9 meseci terapije, a opadajućih vrednosti na peroralnom Fe tokom prvog trimestra, zatim stabilna.

4.e. Održavanje adekvatne količine hemoglobina u retikulocitima (CHr) u obe terapijske grupe tokom 9 meseci ukazuje da obe opcije supstitucije Fe (oralna prema IV) obezbeđuju dobru saturaciju bolesnika gvoždem. Značajan porast CHr uočen je tokom prvih 3 meseca u obe grupe supstitucije Fe. Nivoi solubilnog transferinskog receptora (sTfR) kod bolesnika obe grupe Fe potvrđuju adekvatnu saturaciju gvožđa tokom 9 meseci terapije rHu Epo.

4.f. Nivo feritina u serumu tokom 9 meseci nije pokazivao značajne razlike u depozitima Fe odnosu na modalitet supstitucije Fe (oralno Fe prema IV Fe). Indeks sTfR/feritin se povećao na peroralnoj terapiji Fe, a smanjio na terapiji IV Fe posle 9 meseci, kada nastaje značajna razlika između dve terapijske grupe Fe ($p=0.046$).

5. Analiza ukupnog broja 92 bolesnika ukazuje na značajno smanjenje vrednosti ejskacione frakcije leve komore (EF) posle 9 meseci terapije $p=0.020$. Ejskaciona frakcija (EF) leve komore nije bila značajno promenjena posle 9 meseci u grupi na IV terapiji Fe ($p=0.235$), a opada na peroralnom Fe ($p=0.038$). Blizu 13% bolesnika iz obe grupe Fe povećava EF posle 9 meseci.

U grupi 46 bolesnika na peroralnoj terapiji supstitucije Fe kod polovine (52.17%) stanje je nepromenjeno posle 9 meseci terapije, kod 13.05% se EF povećala, a kod 34.78% se EF se smanjila ($p=0.045$). U grupi 46 bolesnika na IV terapiji Fe kod 65.21% nije bilo promene u EF, kod 13.05% EF se povećala, a kod 21.74% bolesnika EF je manja u 9-om mesecu ($p=0.235$).

6. Promene u kategorijama LVMI, od prvog do devetog meseca, kod bolesnika na oralnom Fe nisu bile statistički značajne ($p=0.152$), dok su u grupi bolesnika na IV Fe promene bile u prilog pogoršanja LVMI ($p=0.002$). U grupi na IV Fe na početku ispitivanja bilo je 17 bolesnika u kategoriji normalan LVMI, a na kraju samo njih 10. U kategoriji teška abnormalnost LVMI, na početku istraživanja bilo je 12 bolesnika, a na kraju istraživanja taj broj se skoro udvostručio (21 bolesnik). U grupi 46 bolesnika

na oralnom Fe od 16 bolesnika sa normalnim nalazom 50% zadržava normalan LVMi posle 9 meseci. U grupi 46 bolesnika na IV Fe kod 10 od 17 bolesnika (58,82%) sa početnim normalnim LVMi je sa normalni nalazom posle 9 meseci.

7. Promene koje su se odigrale u geometriji srca RWT posle 9 meseci terapije nisu podjednako verovatne za bolesnike na različitoj supstituciji Fe (oralni Fe glukonat ili IV Fe glukonat) u lečenju anemije eritropoetinom beta na hemodijalizi, na osnovu prelaska u drugu kategoriju geometrije RWT ($p=0.034$). Manji relativni broj poboljšanja geometrije srca je kod teških srčanih bolesnika (ekscentrična hipertrofija srca) na peroralnom Fe (33.3%), nego na IV Fe (38.46%) i manji relativni broj bolesnika zadržava normalan nalaz na peroralnom Fe (44.4%), nego na IV Fe (50%). Koncentričnu hipertrofiju zadržava 94.11% bolesnika na IV Fe, a samo 64.70% bolesnika na peroralnom Fe.

8. U grupi 67 bolesnika sa ACE genotipom II ili DI nije bilo značajne promene u RWT, dok je ejectiona frakcija (EF) leve komore značajno promenjena posle 9 meseci terapije. Kod 56.71% nalaz je isti, kod 14.92%, uočeno je poboljšanje i kod 28.36% opadanje EF prema nalazu u prvom mesecu ($p=0.038$).

U grupi 25 bolesnika sa ACE genotipom DD kod 60% nije bilo promene u EF, kod 8% je došlo do povećanja EF, a kod 32% EF je manja u 9om mesecu terapije, razlika nije značajna ($p=0.223$).

Promene u kategorijama LVMi kod bolesnika iz grupe ACE genotip II, DI od prvog do devetog meseca bile su statistički značajne ($p=0.022$), u smislu pogoršanja LVMi, slično kao u grupi bolesnika ACE genotip DD ($p=0.034$).

Bolesnici sa DD genotipom i koncentričnom hipertrofijom tj. geometrijom srca RWT kategorija 2 pokazuju češću progresiju u ekscentričnu hipertrofiju srca nego genotip II, DI (od 10 bolesnika sa DD genotipom koji su imali koncentričnu hipertrofiju srca, posle 9 meseci 70% ima koncentričnu hipertrofiju, a 30% pogoršava nalaz progresijom u ekscentričnu hipertrofiju; od 24 bolesnika sa II, DI genotipom 83.3% ima koncentričnu hipertrofiju posle 9 meseci, a 16.7% bolesnika progrediraju u ekscentričnu hipertrofiju srca).

9. Prosečne vrednosti sistolnog, dijastolnog i srednjeg krvnog pritiska (MAP) su se slično kretale u dve terapijske grupe Fe (Per os FE i IV FE), sa značajnim porastom MAP u trećem i padom MAP u 6om mesecu terapije. Bolesnici na IV Fe imali su veće

vrednosti pritiska svih 9 meseci, razlika nije značajna. Prosečne vrednosti dijastolnog, sistolnog i srednjeg krvnog pritiska bile su veće u grupi genotipa ACE II,DI nego ACE DD, što ukazuje na bolju kontrolu krvnog pritiska u nosilaca ACE DD genotipa primenjenom terapijom ACE inhibitorom.

7. LITERATURA

1. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39 (2 S1):S18.
2. The 2014 USRDS Annual Data Report on kidney disease in the US is freely available as an AJKD e – supplement [http://www.ajkd.org/issue/S0272-6386\(15\)X0014-X](http://www.ajkd.org/issue/S0272-6386(15)X0014-X)).
3. Obrador GT, Arora P, Kausz AT, Ruthazer R, Pereira BJ, Levey AS. Level of renal function at the initiation of dialysis in the U.S. end-stage renal disease population. *Kidney Int* 1999;56:2227–2235.
4. Foley RN, Chen SC, Solid CA, Gilbertson DT, Collins AJ. Early mortality in patients starting dialysis appears to go unregistered. *Kidney Int* 2014;86(2):392-398.
5. Thomas R, Kanso A, Sedor JR. Chronic Kidney Disease and Its Complications *Prim Care* 2008; 35(2): 329–337.
6. World Health Organization. Nutritional anaemias: Report of a WHO scientific group. 1968.
7. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease. [published correction appears in *Am J Kidney Dis* 2006;48:518]. *Am J Kidney Dis* 2006;47.S11–S145.
8. Besarab A, Levin A. Defining a renal anemia management period. *Am J Kidney Dis* 2000; 36:S13– S23.
9. McClellan W, Aronoff SL, Bolton WK, Hood S, Lorber DL, Tang KL, et al. The prevalence of anemia in patients with chronic kidney disease. *Curr Med Res Opin* 2004;20:1501–1510.
10. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE. The impact of anemia on cardiomyopathy, morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1996; 28:53–61.

11. Jeren-Strujic B, Raos V, Jeren T, Horvatin-Godler S. Morphologic and functional changes of left ventricle in dialyzed patients after treatment with recombinant human erythropoietin (r-HuEPO). *Angiology* 2000; 51:131–139.
12. Souma T, Suzuki N, Yamamoto M. Renal erythropoietin-producing cells in health and disease. *Front Physiol* 2015; 6:167.
13. Haase VH. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010;299(1):F1-13.
14. Suzuki N. Erythropoietin gene expression: developmental-stage specificity, cell-type specificity, and hypoxia inducibility. *Tohoku J Exp Med* 2015;235(3):233-240.
15. Bunn HF. Erythropoietin. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3(3):a011619.
16. Ebert BL, Bunn HF. Regulation of the erythropoietin gene. *Blood* 1999;94:1864–1877.
17. Remy I, Wilson IA, Michnick SW. Erythropoietin receptor activation by a ligand-induced conformation change. *Science* 1999;283(5404):990-993.
18. Wu H, Liu X, Jaenisch R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell* 1995;83(1):59-67.
19. Jelkmann W, Metzner E. Erythropoietin in the control of red cell production. *Anat Anz* 1996;178:391-403.
20. Silva M, Grillot D, Benit A, Richard C, Nunez G, Fernandez-Luna JL. Erythropoietin can promote erythroid progenitor survival by repressing apoptosis through Bcl-XL and Bcl-2. *Blood* 1996;88:1576-1582.
21. Nagata Y, Kiefer F, Watanabe T, Todokoro K. Activation of hematopoietic progenitor kinase-1 by erythropoietin. *Blood* 1999; 93:3347-3354.
22. Suzuki N, Suwabe N, Ohneda O, Obara N, Imagawa S, Pan X, et al. Identification and characterization of 2 types of erythroid progenitors that express GATA-1 at distinct levels. *Blood* 2003;102(10):3575-3583.
23. Miyake T, Kung CK, Goldwasser E. Purification of human erythropoietin. *J Biol Chem* 1977;252(15):5558-5564.

24. Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature* 1985;313(6005):806-810.
25. McGonigle RSR, Wallin JD, Shaddock RK, Fisher JW. Erythropoietin deficiency and erythropoiesis in renal insufficiency. *Kidney int* 1984;25:437-444.
26. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1995;270:1230-1237.
27. Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, Marti HH. Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O₂ tension. *Am J Physiol* 1996;271:C1172-C1180.
28. Metzen E, Berchner-Pfannschmidt U, Stengel P, Marxsen JH, Stolze I, Klinger M. Intracellular localisation of human HIF-1 α hydroxylases: implications for oxygen sensing. *J Cell Sci* 2003; 116: 1319-1326.
29. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1 is a basic helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5510-5514.
30. Semenza GL, Neufelt MK, Chi SM, Antonarkis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5680-5684.
31. Wenger RH, Gassmann M. Oxygen(es) and the hypoxia – inducible factor-1. *Biol Chem* 1997; 378: 609-616.
32. Weiss G, Houston T, Kastner S, Johrer K, Grunewald K, Brock JH. Regulation of cellular iron metabolism by erythropoietin: activation of iron regulatory protein and upregulation of transferrin receptor expression in erythroid cells. *Blood* 1997;89:680-700.
33. Krantz SB. Erythropoietin. *Blood* 1991;77:419-434.
34. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006 Jan;17(1):17-25.
35. Pagel H, Jelkmann W, Weiss C. Erythropoietin production in the isolated perfused kidney. *Biomed Biochim Acta* 1990;49(2-3):S271-S274.

36. Boutin AT, Weidemann A, Fu Z, Mesropian L, Gradin K, Jamora C, et al. Epidermal sensing of oxygen is essential for systemic hypoxic response. *Cell* 2008;133(2):223-234.
37. Eschbach JW, Adamson J. Modern aspect of the pathophysiology of renal anemia. *Contrib Nephrol* 1988;66:63-70.
38. Bowry SK, Gatti E. Impact of hemodialysis therapy on anemia of chronic kidney disease: the potential mechanisms. *Blood Purif* 2011;32(3), 210-219.
39. Eschbach JW, Haley NR, Egrie JC, Adamson JW. A comparison of the responses to recombinant human erythropoietin in normal and uremic subjects. *Kidney Int* 1992;43:407-416.
40. Macdougall IC. Poor response to erythropoietin: practical guidelines on investigation and management. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10:607–614.
41. Macdougall IC. The role of ACE inhibitors and angiotensin II receptor blockers in the response to epoetin. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:1836–1841.
42. Mrug M, Stopka T, Julian BA, Prchal JF, Prchal JT. Angiotensin II stimulates proliferation of normal early erythroid progenitors. *J Clin Invest* 1997; 100:2310–14.
43. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86:1343–1246.
44. Varaganam M, McCloskey D, Sinnot PJ, Raftery M, Yaqoob MM. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and erythropoietin requirement. *Perit Dial Int* 2003; 23: 111–115.
45. Mircescu G, Garneata L, Capusa C, Ursea N. Intravenous iron supplementation for the treatment of anaemia in pre-dialyzed chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 120–124
46. Silverberg DS, Iaina A, Peer G, Kaplan E, Levi BA, Frank N et al. Intravenous iron supplementation for the treatment of the anemia of moderate to severe chronic renal failure patients not receiving dialysis. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 234–238.

47. Fishbane S, Frei GL, Maesaka J. Reduction in recombinant human erythropoietin doses by the use of chronic intravenous iron supplementation. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 41–46.
48. Sunder-Plassmann G, Horl WH. Importance of iron supply for erythropoietin therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2070–2076.
49. Pisoni RL, Fuller DS, Bieber BA, Gillespie BW, Robinson BM. The DOPPS Practice Monitor for US dialysis care: trends through August 2011. *Am J Kidney Dis* 2012; 60(1):160-165.
50. Besarab A, Bolton WK, Browne JK, Egrie JC, Nissenson AR, Okamoto DM et al. The effects of normal as compared with low hematocrit values in patients with cardiac disease who are receiving hemodialysis and epoetin. *N Engl J Med* 1998; 339: 584–590.
51. Singh AK, Szczech L, Tang KL, Barnhart H, Sapp S, Wolfson M et al.; CHOIR Investigators. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2006; 355(20):2085-2098.
52. Pfeffer MA, Burdmann EA, Chen CY, Cooper ME, de Zeeuw D, Eckardt KU et al.; TREAT Investigators. A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2009; 361(21):2019-2032.
53. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Anemia Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2012;2:279–335.
54. Worwood M. Serum Ferritin. In *Iron in Biochemistry and Medicine II*. Academic Press: New York 1980; 203-244.
55. Cavill I. Diagnostic Methods In Disorders of Iron Metabolism. *Clin Haematol* 1982;2:259-275.
56. Furukawa T, Naitoh Y, Kohno H, Tokunaga R, Taketani S. Iron deprivation decreases ribonucleotide reductase activity and DNA synthesis. *Life Sci* 1992; 50(26):2059–65.
57. Hentze MW, Kuhn LC. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide, and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(16): 8175–8182.

58. Andrews NC. Disorders of IRON Metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341:1986-1999.
59. Andrews NC, Bridges KR. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH, eds. *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*. 5th ed. Vol. 1. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998:423-461.
60. Cook JD, Barry WE, Hershko C, Fillet G, Finch CA. Iron kinetics with emphasis on iron overload. *Am J Pathol* 1973;72:337-343.
61. Wessling-Resnick M. Biochemistry of iron uptake. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1999; 34(5): 285–314.
62. Conrad ME, Umbreit JN. Iron absorption and transport-an update. *Am J Hematol* 2000; 64(4): 287–298.
63. Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* 2001; 22(1–2): 1–87.
64. Muir A, Hopfer U. Regional specificity of iron uptake by small intestinal brush-boarder membranes from normal and iron deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1985; (Vol. 248)3:G376-G379.
65. Wang J, Pantopoulos K. Regulation of cellular iron metabolism *Biochem J* 2011;434:365–381.
66. Bleackley MR, Wong AY, Hudson DM, Wu CH, Macgillivray RT. Blood iron homeostasis: newly discovered proteins and iron imbalance. *Transfus Med Rev* 2009;23(2):103-123.
67. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005;1: 191–200.
68. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell* 2010;142:24–38.
69. Laftah AH, Latunde-Dada GO, Fakhri S, Hider RC, Simpson RJ, McKie AT. Haem and folate transport by proton-coupled folate transporter/haem carrier protein 1 (SLC46A1). *Br J Nutr* 2009;101(8):1150-1156.
70. Nemeth E and Ganz T. The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol* 2009;122:78–86.

71. Recalcati S, Minotti G, Cairo G. Iron regulatory proteins: from molecular mechanisms to drug development. *Antioxid Redox Signal* 2010;13:1593–1616.
72. Wallander ML, Leibold EA, Eisenstein RS. Molecular control of vertebrate iron homeostasis by iron regulatory proteins. *Biochim Biophys Acta* 2006;1763:668–689.
73. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403(6771): 776–781.
74. McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; 5(2): 299–309.
75. Muñoz M, Villar I, Garcia-Erce JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 2009; 15(37):4617-4626.
76. Fleming MD, Romano MA, Su MA, Garrick LM, Garrick MD, Andrews NC. Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(3): 1148–1153.
77. Su MA, Trenor CC, Fleming JC, Fleming MD, Andrews NC. The G185R mutation disrupts function of the iron transporter Nramp2. *Blood* 1998; 92(6): 2157–2163.
78. Hansen SH, Sandvig K, van Deurs B. Molecules internalized by clathrin-independent endocytosis are delivered to endosomes containing transferrin receptors. *J Cell Biol* 1993; 123(1): 89–97.
79. Baynes RD. Assessment of iron status. *Clin Biochem* 1996; 29(3):209-215.
80. Akmal M, Sawelson S, Karubian F, Gadallah M. The prevalence and significance of occult blood loss in patients with predialysis advanced chronic renal failure, or receiving dialytic therapy. *Clin Nephrol* 1994;42:198–202.
81. Sargent JA, Acchiardo RS. Iron requirements in hemodialysis. *Blood Purification* 2004, 22:112-123.
82. Fishbane S, Maesaka JK. Iron management in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1997;29: 319–333.

83. Spivak, JL. Erythropoiesis, Iron, and Epoetin Alfa Therapy. mLmedcom, Mount Vernon; 1997.
84. Charlton RW, Bothwell TH. Iron absorption. *Ann Rev Med* 1983; 34: 55–68.
85. Milman N. Iron therapy in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Acta Med Scand* 1976; 200:315–319.
86. Eschbach JW, Cook JD, Finch CA. Iron absorption in chronic renal disease. *Clin Sci* 1970;38:191–196.
87. Donnelly SM, Posen GA, All MA. Oral absorption in hemodialysis patients treated with erythropoietin. *Clin Invest Med* 1991; 14:271–276.
88. Bridges KR, Seligman PA. Disorders of iron metabolism, in *Blood: Principles and Practice of Hematology*, edited by Handin RI, Lux SE, Stossel TP, New York, Lippincott, 1995.
89. Coyne D. Challenging the boundaries of anemia management: a balanced approach to i.v. iron and EPO therapy. *Kidney Int Suppl* 2006;69:S1–S3.
90. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Heparin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290:G199-G203.
91. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease: 2007 update of hemoglobin target. *Am J Kidney Dis* 2007;50:471–530.
92. Hörl WH. Iron therapy for renal anaemia: how much needed, how much harmful? *Pediatr Nephrol* 2007;22:S480-S489.
93. Danielson B, Geisser P, Schneider W. Iron Therapy with Special Emphasis on Intravenous Administration. Switzerland: Vifor (International) Inc. Publisher 1st Edition, 1996.
94. Locatelli F, Aljama P, Bárány P, Canaud B, Carrera F, Eckardt KU, et al. European Best Practice Guidelines Working Group. Revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19 Suppl 2:ii1-47.
95. Macdougall IC. Monitoring of iron status and iron supplementation in patients treated with erythropoietin. *Curr Opin Nephrol Hypertension* 1994;3:620-662.

96. Fishbane S. Iron supplementation in renal anemia. *Semin Nephrol* 2006;26:319-324.
97. Fishbane S, Kalantar-Zadeh K, Nissenson AR. Serum ferritin in chronic kidney disease: Reconsidering the upper limit for iron treatment. *Semin Dial* 2004;17:336-341.
98. Kalantar-Zadeh K, Rodriguez RA, Humphreys MH. Association between serum ferritin and measures of inflammation, nutrition and iron in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:141-149.
99. Fishbane S, Kowalski EA, Imbriano LJ, Maesaka JK. The evaluation of iron status in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:2654-2657.
100. Fernandez-Rodriguez AM, Guindeo-Casaus MC, Molero-Labarta T, Dominiguez-Cabrera C, Hortal-Caseon L, Perey-Borges P et al. Diagnosis of iron deficiency in chronic renal failure. *Am Kidney Dis* 1999;34:508-513.
101. Morrison ED, Brandhagen DJ, Phatak PD, Barton JC, Krawitt EL, El-Serag HB et al. Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among US patients with phenotypic hemochromatosis. *Ann Intern Med* 2003;138:627-633.
102. Kalantar-Zadeh K, Regidor DL, Mc Allister CJ, Michael B, Warnock DG. Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3070-3080.
103. Kalantar-Zadeh K, Lee GH. The fascinating but deceptive ferritin; To measure it or not to measure it in chronic kidney disease? *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1(Suppl):S9-S18.
104. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: New diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003;49:1573-1578.
105. Chiang WC, Tsai TJ, Chen YM, Lin SL, Hsieh BS. Serum soluble transferrin receptor reflects erythropoiesis but not iron availability in erythropoietin-treated chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2002;58:363-369.
106. Macdougall IC, Cavill I, Hulme B, Bain B, McGregor E, McKay P et al. Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: A new approach. *BMJ* 1992;304:225-226.

107. Brugnara C, Chambers LA, Malynn E, Goldberg MA, Kruskall MS. Red cell regeneration induced by subcutaneous recombinant erythropoietin: iron-deficient erythropoiesis in iron-replete subjects. *Blood* 1993;81:956–964.
108. Brugnara C, Colella GM, Cremins JC, Langley RC, Schneider TJ, Rutheford CJ, et al. Effects of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects: development of decreased reticulocyte hemoglobin content and iron-deficient erythropoiesis. *J Lab Clin Med* 1994;123:660–667.
109. Chen YC, Hung SC, Tarng DC. Association between transferrin receptor-ferritin index and conventional measures of iron responsiveness in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2006;47:1036–1044.
110. Schaefer RM, Schaefer L. The hypochromic red cell: A new parameter for monitoring of iron supplementation during rhEPO therapy. *J Perinat Med* 1995;23:83–88.
111. Tessitore N, Solero GP, Lippi G, Bassi A, Faccini GB, Bedogna V et al. The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1416–1423.
112. Paterakis GS, Laoutaris NP, Alexia SV, Siourounis PV, Stamulakatou AK, Premetis EE, et al. The effect of red cell shape on the measurement of red cell volume. A proposed method for the comparative assessment of this effect among various haematological analysers. *Clin Lab Haematol* 1994;16:235–245.
113. Bovy C, Tsoho C, Crapanzano L, Rorive G, Beguin Y, Albert A, Paulus JM: Factors determining the percentage of hypochromic red blood cells in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;56:1113–1119.
114. Brugnara C. Reticulocyte cellular indices: a new approach in the diagnosis of anemias and monitoring of erythropoietic function. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000;37:93–130.
115. Davis BH. Report on the ISLH-sponsored immature reticulocyte fraction (IRF) workshop. *Lab Hematol* 1997;3:261–263.
116. Cavill IA. Iron status indicators: hello new, goodbye old. *Blood* 2003;101:372–373.

117. Means RT, Glader B. General Considerations. Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, eds. *Anemia: Wintrobe's Clinical Hematology*. 12th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2009. Vol. 1: Chapter 26.
118. Hoffman R, Xu M, Finazzi G, Barbui T. The Polycythemias. Hoffman F, Benz EJ, Shattil SJ, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. 5th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone; 2009. Chapter 68.
119. Mittman N, Sreedhara R, Mushnick R, Chattopadhyay J, Zelmanovic D, Vaseghi M, et al. Reticulocyte hemoglobin content predicts functional iron deficiency in hemodialysis patients receiving rHuEPO. *Am J Kidney Dis* 1997;30:912–922.
120. Chuang CL, Liu RS, Wei YH, Huang TP, Tarng DC. Early prediction of response to intravenous iron supplementation by reticulocyte haemoglobin content and high-fluorescence reticulocyte count in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18: 370–377.
121. Bovy C, Gothot A, Krzesinski JM, Beguin Y. Mature erythrocyte indices: New markers of iron availability. *Haematologica* 2005;90:549–551.
122. Fishbane S, Galgano C, Langley RC Jr, Canfield W, Maesaka JK. Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997;52:217–222.
123. Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Faubert J. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001;60: 2406–2411.
124. Henry D, Abels R, Larholt K. Prediction of response to recombinant human erythropoietin (r-HuEPO/Epoetin-a) therapy in cancer patients. *Blood* 1995;85:1676–8.
125. Major A, Mathez-Loic F, Rohling G, Gautschi K, Brugnara C. The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant human erythropoietin. *Br J Haematol* 1997;98:292-294.
126. Bhandari S, Turney JH, Brownjohn AM, Norfolk D. Reticulocyte indices in patients with end stage renal disease on hemodialysis. *J Nephrol* 1998;11:72-82.

127. Brugnara C. Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders. *Int J Clin Lab Res* 1998;28:1-11.
128. Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Irjala K. Evaluation of new immunoenzymometric assay for measuring soluble transferrin receptor to detect iron deficiency in anemic patients. *Clin Chem* 1997; 43:1641-1646.
129. Kawabata H, Yang R, Hiramata T, Vuong PT, Kawano S, Gombart AF, et al. Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor - like family. *J Biol Chem* 1999; 274(30): 20826-20832.
130. Levy JE, Jin O, Fujiwara Y, Kuo F, Andrews NC. Transferrin receptor is necessary for development of erythrocytes and the nervous system. *Nat Genet* 1999;21(4):396-399.
131. Galloway MJ, Smellie WS. Investigating iron status in microcytic anaemia. *BMJ* 2006; 333:791–793.
132. Wish JB. Assessing iron status: Beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1[Suppl]: S4–S8.
133. Punnonen K, Irjala K, Rajamaki A. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 1997;89:1052–7.
134. Cook JD, Flowers CH, Skikne BS. The quantitative assessment of body iron. *Blood* 2003;101:3359–3363.
135. Hastka J, Lasserre J, Schwarzbeck A, Strauch M, Hehlmann R. Zinc protoporphyrin in anemia of chronic disorders. *Blood* 1993; 81(5): 1200-1204.
136. Labbe R, Finch C, Smith N, Doan R, Sood S, Madan N. Erythrocyte protoporphyrin/heme ratio in the assessment of iron status. *Clin Chem* 1979; 25: 87-92.
137. Labbe RF. History and background of protoporphyrin testing. *Clin Chem* 1977;23:256-259.
138. Hastka J, Lasserre JJ, Schwarzbeck A, Strauch M, Hehlmann R. Washing erythrocytes to remove interferences in measurements of zinc protoporphyrin by front-face hematofluorometry. *Clin Chem* 1992;38:2184-2189.
139. Hastka J, Lasserre JJ, Schwarzbeck A, Hehlmann R, Strauch M. Zinkprotoporphyrin als Alternative zu Ferritin bei Steuerung der

- Eisensubstitution erythropoietinbedürftiger Dialysepatienten. *Nieren- und Hochdruckkrankheiten* 1991; 20(12): 697-700.
140. Zanella A, Gridelli L, Berzuini A, Colotti MT, Mozzi F, Milani S, et al. Sensitivity and predictive value of serum ferritin and free erythrocyte protoporphyrin for iron deficiency. *J Lab Clin Med* 1989; 113: 73-78.
 141. Baynes RD. Iron deficiency. In Brock JH, Halliday JW, Pippard MJ, Powell LW, eds. *Iron Metabolism in Health and Disease*. Saunders, London, 1994; 189-225.
 142. Baldus M, Salopek S, Moller M, Schliesser J, Klooker P, Reddig J, et al. Experience with zinc protoporphyrin as a marker of endogenous iron availability in chronic haemodialysis patients *Nephrol Dial Transplant* 1996;11: 486-491.
 143. Worwood M. Laboratory determination of iron status. In: Brock JH, Halliday JW, Pippard MJ, Powell LW, eds. *Iron Metabolism in Health and Disease*. Saunders, London, 1994; 1449-1476.
 144. Fishbane S, Lynn RI. The utility of zinc protoporphyrin for predicting the need for intravenous iron therapy in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1995;25(3):426-432.
 145. Heywood JT. The cardiorenal syndrome: lessons from the ADHERE database and treatment options. *Heart Fail Rev* 2004; 9(3):195-201.
 146. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome *J Am Coll Cardiol* 2008; 52(19):1527-1539.
 147. Ronco C, McCullough P, Anker SD, Anand I, Aspromonte N, Bagshaw SM, et al. Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) consensus group Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the acute dialysis quality initiative. *Eur Heart J* 2010; 31(6):703-711.
 148. National Institutes of Health. *Annual Data Report*. Bethesda, Md, USA: USRDS; 1997. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney diseases.<http://www.usrds.org/>.
 149. Tonelli M, Wiebe N, Cullerton B, House A, Rabbat C, Fok M, et al. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(7):2034-47.

150. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med* 1998; 339(12):799-805.
151. Greaves K, Chen R, Ge L, Wei M, Tong B, Cai N, et al. Mild to moderate renal impairment is associated with increased left ventricular mass. *Int J Cardiol* 2008; 124(3):384-386.
152. U. S. Renal Data System: USRDS 1999 Annual Data Report: atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United states, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 1999.
153. Parfrey PS. Cardiac disease in dialysis patients: diagnosis, burden of disease, prognosis, risk factors and management. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(Suppl 5):58-68.
154. U.S. Renal Data System, USRDS 2008 Annual Data Report: atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United states, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, 2008.
155. Collins AJ. Cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Am J Sci* 2003; 325:163-167.
156. Uhlig K, Levey AS, Sarnak MJ. Traditional Cardiac Risk Factors in Individuals with Chronic Kidney Disease. *Semin Dial* 2003;16:118-127.
157. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: What do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? *Am J Kidney Dis* 1998;32: 853–906.
158. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Martin CJ, Murray DC, et al. Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int* 1995; 47: 186–192.
159. Locatelli F, Marcelli D, Conte F, D’Amico M, Del Vecchio L, Limido A, et al. for the Registro Lombardo Dialisi e Trapianto. Patient selection affects end-stage renal disease outcome comparisons. *Kidney Int* 2000; 57 [Suppl 74]: S94–S99.

160. U.S. Renal Data System: USRDS 1998 Annual Data Report, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD, April 1998.
161. Petrović D, Stojimirović B. Cardiovascular morbidity and mortality in hemodialysis patients- epidemiological analysis. *Vojnosanit Pregl* 2008;65(12):893-900.
162. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Novel Cardiovascular Risk Factors in End-Stage Renal Disease. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(Suppl 1):77-80.
163. Foley RN, Parfrey PS. Anemia as a Risk Factor for Cardiac Disease in Dialysis Patients. *Semin Dial* 1999;12(2):84-86.
164. Zoccali C. Traditional and emerging cardiovascular and renal risk factors: An epidemiological perspective. *Kidney Int* 2006;70(1):26-33.
165. Locatelli F, Pozzoni P, Tentori F, Del Vecchio L. Epidemiology of cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18[Suppl 7]:vii2-vii9.
166. Parferey PS, Foley RN. The Clinical Epidemiology of Cardiac Disease in Chronic Renal Failure. *J am Soc Nephrol* 1999;10:1606-1615.
167. Locatelli F, Bommer J, London GM, Martin-Malo A, Wanner C, Yaqoob M, et al. Cardiovascular disease determinants in chronic renal failure: clinical approach and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 459-468.
168. London GM. Cardiovascular Disease in Chronic Renal Failure: Patophysiologic Aspects. *Semin Dial* 2003; 16: 85-94.
169. London GM. Left ventricular alterations and end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(Suppl 1): 29-36.
170. Rostand RG, Kirk KA, Rutsky EA. Dialysis ischemic heart disease: Insights from coronary angiography. *Kidney Int* 1984; 25:653-659.
171. Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murray D, Barre PE. Outcome and risk factors of ischemic heart disease in chronic uremia. *Kidney Int* 1996;49:1428-1434.
172. Gross ML, Ritz E. Hypertrophy and fibrosis in the cardiomyopathy of uremia: Beyond coronary heart disease. *Semin Dial* 2008;21:308-318.

173. Levin A, Thompson CR, Ethier J, Carlisle EJF, Tobe S, Mendelssohn D, et al. Left ventricular mass index in early renal disease. Impact of a decline in hemoglobin. *Am J Kidney Dis* 1999;34: 125–134.
174. Poskurica M, Miletić D, Lazarević T, Lazarević M, Petrović D. Srčana insuficijencija kod bolesnika sa završnim stadijumom hronične insuficijencije bubrega. *Med Istraž* 1999;33(2):27-32.
175. Levy D, Savage DD, Garrison RJ, Keven MA, Kannel WB, Castelli WP. Echocardiographic criteria for left ventricular hypertrophy: The Framingham Heart Study. *Am J Cardiol* 1987;59: 956–960.
176. Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savage DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med* 1991;114: 345–352.
177. Verdecchia P, Schillacci G, Borgioni C, Ciucci A, Battistelli M, Bartoccini C, et al. Adverse prognostic significance of concentric remodeling of the left ventricle in hypertensive patients with normal left ventricular mass. *Jam Coll Cardiol* 1995; 25: 871-878.
178. Madore F, Lowrie EG, Brugnara C, Lew NL, Lazarus JM, Bridges K, et al. Anemia in hemodialysis patients: Variables affecting this outcome predictor. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1921–1929.
179. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, et al. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE study. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1918-1927.
180. Silverberg DS, Wexler D, Blum M, Tchebiner J, Sheps D, Keren G, et al. The correction of anemia in severe resistant heart failure with erythropoietin and intravenous iron prevents the progression of both the heart and the renal failure and markedly reduces hospitalization. *Clinical Nephrol* 2002;58:S37–S45.
181. Silva RP, Barbosa PH, Kimura OS, Sobrinho CR, Sousa Neto JD, Silva FA, et al. Prevalance of anemia and its association with cardio-renal syndrome. *International Journal of Cardiology* 2007;120(2):232–236.

182. Nanas JN, Matsouka C, Karageorgopoulos D, Leonti A, Tsolakis E, Drakos SG, et al. Etiology of anemia in patients with advanced heart failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2006;48(12):2485–2489.
183. Gotloib L, Silverberg D, Fudin R, Shostak A. Iron deficiency is a common cause of anemia in chronic kidney disease and can often be corrected with intravenous iron. *J Nephrology* 2006;19(2):161–167.
184. Calvillo L, Latini R, Kajstura J, Leri A, Anversa P, Ghezzi P, et al. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(8):4802-4806.
185. Burger D, Lei M, Geoghegan-Morphet N, Lu X, Xenocostas A, Feng Q. Erythropoietin protects cardiomyocytes from apoptosis via up-regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Cardiovasc Res* 2006; 72(1):51-59.
186. Von Thun AM, El-Dahr SS, Vari RC, Navar LG. Modulation of reninangiotensin and kallikrein gene expression in experimental hypertension. *Hypertension* 1994;23 (suppl 1):I131-I136.
187. Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme: two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biol Chem* 1991;266:15377-83.
188. Roszkopf D, Michel MC. Pharmacogenomics of G Protein-Coupled Receptor Ligands in Cardiovascular Medicine. *Pharmacological Reviews* 2008;60(4):513-535.
189. Soubrier F, Alhenc-Gelas, Hubert C, Allegrini J, John M, Tregear G, et al. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci* 1988;85:9386-9390.
190. Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovao R, Gonzales MF et al. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy study. *Am J Hum Genet* 1998;43(5):774-780.
191. Editorial review. Polymorphisms of the renin-angiotensin system gene in progressive renal diseases. *Kidney Int* 1996;50:732-744.
192. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant in the

- angiotensin I converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992; 51:197-205.
193. Ha SK, Lee SY, Park HS, Shin JH, Kim SJ, Kim DH et al. ACE DD genotype is more susceptible than ACE II and ID genotypes to the antiproteinuric effect of ACE inhibitors in patients with proteinuric non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1617-1623.
 194. Cambien F, Poiriar O, Lecerf L, Evans A, Cambon JP, Arvelier D, et al. Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-644.
 195. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, et al. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1994;330:1634-1638.
 196. Arnett DK, Borecki IB, Ludwig EH, Pankow JS, Myers R, Evans G, et al. Angiotensinogen and angiotensin converting enzyme genotypes and carotid atherosclerosis: the atherosclerosis risk in communities and the NHLBI family heart studies. *Atherosclerosis* 1998;138:111-116.
 197. Morris BJ, Zee RY, Shrader AP. Different frequencies of angiotensin-converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. *J Clin Invest* 1994;94:1085-1089.
 198. Penno G, Chaturvedi N, Talmud PJ, Cotroneo P, Manto A, Nannipieri M, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism on progression of renal disease and the influence of ACE inhibition in IDDM patients: findings from the EUCLID Randomized Controlled Trial. EURODIAB Controlled Trial of Lisinopril in IDDM. *Diabetes* 1998;47:1507-11.
 199. Tiret L, Blanc H, Ruidavets JB, Arveiler D, Luc G, Jeunemaitre X, et al. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system in relation to hypertension and parental history of myocardial infarction and stroke: the PEGASE study. *Projet d'Etude des Genes de l'Hypertension Arterielle Severe a moderee Essentielle. J Hypertens* 1998;16:37-44.

200. Cambien F, Costerousse O, Tiret L, Poirier O, Lecerf L, Gonzales F, et al. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. *Circulation* 1994;90:669–676.
201. Nakai K, Itoh C, Miura Y, Hotta K, Musha T, Itoh T, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation* 1994; 90:2199–2202.
202. Evans AE, Poirier O, Kee F, Lecerf L, McCrum E, Falconer T, et al. Polymorphisms of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Q J Med* 1994; 87:211–214.
203. Davis GK, Roberts DH. Molecular genetics of the renin-angiotensin system: implications for angiotensin II receptor blockade. *Pharmacol Ther* 1997;75:43–50.
204. Malik FS, Lavie CJ, Mehra MR, Milani RV, Re RN. Renin-angiotensin system: genes to bedside *Am Heart J* 1997;134:514–527.
205. Casale PN, Devereux RB, Milner M, Zullo G, Harshfield GA, Pickering TG, et al. Value of echocardiographic measurement of left ventricular mass in predicting cardiovascular morbid events in hypertensive men. *Ann Intern Med* 1986;105(2):173-8.
206. Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994;90:2622–2628 .
207. Prasad N, O’Kane KP, Johnstone HA, Wheeldon NM, McMahon AD, Webb DJ, et al. The relationship between blood pressure and left ventricular mass in essential hypertension is observed only in the presence of the angiotensin converting enzyme deletion allele. *Q J Med* 1994;87:659–662.
208. Riegger GAJ. Role of the renin-angiotensin system as a risk factor for control of morbidity and mortality in coronary artery disease. *Cardiovasc Drugs Ther* 1996;10:613–615.
209. Ledru F, Blanchard D, Battaglia S, Jeunemaitre X, Courbon D, Guize L, et al. Relation between severity of coronary artery disease, left ventricular function

- and myocardial infarction, and influence of the ACE I/D gene polymorphism. *Am J Cardiol* 1998;82:160–165.
210. Pepine CJ. The effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial dysfunction: potential role in myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 1998; 82:23S–27S.
 211. Mrug M, Juliana BA, Prchal JT. Angiotensin-II receptor type 1 expression in erythroid progenitors: Implications for the pathogenesis of postrenal transplant erythrocytosis. *Semin Nephrol* 2004; 24: 120–130.
 212. Vlahakos DV, Marathias KP, Madias NE. The role of the renin-angiotensin system in the regulation of erythropoiesis. *Am J Kidney Dis* 2010;56: 558–565.
 213. Savin M, Petronić V. Značaj genotipa angiotenzin-konvertujućeg enzima za lečenje bolesnika s hroničnom nefropatijom alokalema bubrega. *Srp Arh Celok Lek* 2005;133:194-198.
 214. Bailey RR, Sizeland PC: ACE inhibitor anaemia. *NZ Med J* 1989;10:102(867):232.
 215. Vlahakos DV, Canzanello VJ, Madaio MP, Madias NE. Enalapril-associated anemia in renal transplant recipients treated for hypertension. *Am J Kidney Dis* 1991;17:199-205.
 216. Nakao K, Shirakura T, Azuma M, Maekawa T. Studies on erythropoietic action of angiotensin II. *Blood* 1967; 29: 754–760.
 217. Azizi I, Rousseau A, Ezan E, Guyene TT, Michelet S, Grognet JM, et al. Acute angiotensin-converting enzyme inhibition increases the plasma level of the natural stem cell regulator n-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline. *J Clin Invest* 1996; 97: 839–844.
 218. Le Meur Y, Lorgeot V, Comte L, Szelag JC, Aldigier JC, Leroux-Robert C, et al. Plasma levels and metabolism of AcSDKP in patients with chronic renal failure: Relationship with erythropoietin requirements. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 510–517.
 219. Rodgers KE, Xiong S, Steer R, diZerega GS. Effect of angiotensin II on hematopoietic progenitor cell proliferation. *Stem Cells* 2000; 18: 287–294.

220. Fisher JW, Samuels AI, Langston JW. Effects of angiotensin and renal artery constriction on erythropoietin production. *J Pharmacol Exp Ther* 1967;157:618–625.
221. Freudenthaler SM, Schreeb KH, Körner T, Gleiter CH. Angiotensin II increases erythropoietin production in healthy human volunteers. *Eur J Clin Invest* 1999; 29:816–823.
222. Gossmann J, Burkhardt R, Harder S, Lenz T, Sedlmeyer A, Klinkhardt U, et al. Angiotensin II infusion increases plasma erythropoietin levels via an angiotensin II type 1 receptor-dependent pathway. *Kidney Int* 2001; 60: 83–86.
223. Pratt MC, Lewis-Barned NJ, Walker RJ, Bailey RR, Shand BI, Livesey J. Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors on erythropoietin concentrations in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 1992; 34: 363–365.
224. Tarazi RC, Frohlich ED, Dustan HP, Gifford RW Jr, Page IH. Hypertension and high hematocrit. Another clue to renal arterial disease. *Am J Cardiol* 1966;18: 855–858.
225. Gupta M, Miller BA, Ahsan N, Arenas JD, Ulsh PJ, Cheung J, et al. Expression of angiotensin II type 1 receptor on erythroid progenitors of patients with post transplant erythrocytosis. *Transplantation* 2000; 70: 1188–1194.
226. Glicklich D, Burris L, Urban A, Tellis V, Greenstein S, Schechner R, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition induces apoptosis in erythroid precursors and affects insulin-like growth factor-1 in posttransplantation erythrocytosis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1958–1964.
227. Kuriyama S, Tomonari H, Tokudome G, Horiguchi M, Hayashi H, Kobayashi H, et al. Antiproteinuric effects of combined antihypertensive therapies in patients with overt type 2 diabetic nephropathy. *Hypertens Res* 2002;25: 849–855.
228. Jacobsen P, Andersen S, Jensen BR, Parving HH. Additive effect of ACE inhibition and angiotensin II receptor blockade in type I diabetic patients with diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003;14: 992–999.

229. Vlahakos DV, Marathias KP, Agroyannis B, Madias NE. Posttransplant erythrocytosis. *Kidney Int* 2003;63: 1187–1194.
230. Marrero MB, Schieffer B, Paxton WG, Heerdt L, Berk BC, Delafontaine P, et al. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor. *Nature* 1995; 375: 247–250.
231. Elliott S, Pham E, Macdougall IC. Erythropoietins: A common mechanism of action. *Exp Hematol* 2008; 36: 1573–1584.
232. Morrone LF, Di Paolo S, Logoluso F, Schena A, Stallone G, Giorgino F, et al. Interference of angiotensin-converting enzyme inhibitors on erythropoiesis in kidney transplant recipients: Role of growth factors and cytokines. *Transplantation* 1997; 64: 913–918.
233. Constantinescu CS, Goodman DB, Ventura ES. Captopril and lisinopril suppress production of interleukin-12 by human peripheral blood mononuclear cells. *Immunol Lett* 1998;62:25–31.
234. Hirakata H, Onoyama K, Iseki K, Kumagai H, Fujimi S, Omae T. Worsening of anemia induced by long-term use of captopril in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 1984;4:355–360.
235. Erturk S, Ates K, Duman N, Karatan O, Erbay B, Ertug E. Unresponsiveness to recombinant human erythropoietin in haemodialysis patients: Possible implications of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:396–397.
236. Albitar S, Genin R, Fen-Chong M, Serveaux MO, Bourgeon B. High dose enalapril impairs the response to erythropoietin treatment in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1206–1210.
237. Ertürk S, Nergizoğlu G, Ateş K, Duman N, Erbay B, Karatan O, et al. The impact of withdrawing ACE inhibitors on erythropoietin responsiveness and left ventricular hypertrophy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1912–1916.
238. Mora C, Navarro JF. Negative effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on erythropoietin response in CAPD patients. *Am J Nephrol* 2000;20:248.

239. Odabas AR, Cetinkaya R, Selcuk Y, Keles S, Bilen H. The effect of high dose losartan on erythropoietin resistance in patients undergoing haemodialysis. *Panminerva Med* 2003; 45: 59–62.
240. Nakamoto H, Kanno Y, Okada H, Suzuki H. Erythropoietin resistance in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Adv Perit Dial* 2004; 20: 111–116.
241. Jeong KH, Lee TW, Ihm CG, Lee SH, Moon JY. Polymorphisms in two genes, IL-1B and ACE, are associated with erythropoietin resistance in Korean patients on maintenance hemodialysis. *Exp Mol Me* 2008; 40: 161–166.
242. Hatano M, Yoshida T, Mimuro T, Kimata N, Tsuchiya K, Sanaka T, et al. The effects of ACE inhibitor treatment and ACE gene polymorphism on erythropoiesis in chronic hemodialysis patients. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 2000; 42: 632–639.
243. Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol* 1993;4:1205-1213.
244. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2015; 28(1):1-39.
245. Teicholz LE, Kreulen T, Herman M V, Gorlin R. Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence or absence of asynergy. *Am J Cardiol* 1976;37:7-11.
246. Devereux RB, Lutas EM, Casale PN. Standardization of M mode echocardiographic left anatomic measurements. *J Am Coll Cardiol* 1984; 4(6):1222-1230.
247. Lang RM, et al. Recommendations for chamber quantification. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18:1454-1457.

248. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215.
249. Prchal JT. Production of Erythrocytes. Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT, eds. *Williams Hematology*. 8th ed. McGraw-Hill: New York; 2010. Chapter 31.
250. Krumholz HM, Larson M, Levy D. Prognosis of left ventricular geometric patterns in the Framingham Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 1995; 25: 879–884.
251. Savin M, Hadzibulic E, Damnjanović T, Santric Z, Stankovic S. Assosiation of I/D ACE genotype with erythropoietin stimulation in kidney failure. *Archive Biolog Sciences* 2016. on LINE-FIRST (00): 51-51. DOI:10.2298/ABS160303051S.
252. Stoves J, Inglis H, Newstead CG. A randomized study of oral vs intravenous iron supplementation in patients with progressive renal insufficiency treated with erythropoietin *Nephrol Dial Transplant* 2001;16: 967–974.
253. Charytan C, Qunibi W, Bailie GR. Comparison of intravenous iron sucrose to oral iron in the treatment of anemic patients with chronic kidney disease not on dialysis. *Nephron Clin Pract* 2005;100: c55–c62.
254. Aggarwal HK, Nand N, Singh S, Singh M, Hemant, Kaushik G. Comparison of oral versus intravenous iron therapy in predialysis patients of chronic renal failure receiving recombinant human erythropoietin. *J Assoc Physicians India* 2003;51;170–174.
255. Locatelli F, Covic A, Eckardt KU, Wiecek A, Vanholder R and on behalf of the ERA-EDTA ERBP Advisory Board. Anaemia management in patients with chronic kidney disease: a position statement by the Anaemia Working Group of European Renal Best Practice (ERBP) 2008;(vol24)2:348-354.
256. Wingard RL, Parker RA, Ismail N, Hakim RM Efficacy of oral iron therapy in patients receiving recombinant human erythropoietin. *Am J Kidney Dis* 1995;25(3):433.

257. Albaramki J, Hodson EM, Craig JC, Webster AC. Parenteral versus oral iron therapy for adults and children with chronic kidney disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012.
258. Fudin R, Jaichenko J, Shostak A, Bennett M, Gotloib L. Correction of uremic iron deficiency anemia in hemodialyzed patients: a prospective study. *Nephron* 1998; 79(3):299–305.
259. Hussain R, Chishti SH, Naqvi SA. Experience of iron saccharate supplementation in haemodialysis patients treated with erythropoietin. *Nephrology* 1998;4(1-2):105–108.
260. Kotaki M, Uday K, Henriquez M, Blum S, Dave M. Maintenance therapy with intravenous iron in hemodialysis patients receiving erythropoietin. *Clinical Nephrology* 1997; 48(1):63–64.
261. Michael B, Trout JR, Hoel G, Volinn W, Jorgensen N, Dahl NV, et al. Effectiveness of continuous low-dose intravenous ferric gluconate therapy for maintaining Hgb and decreasing epoetin requirements in hemodialysis patients [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2007;18(Abstracts Issue):289A.
262. Provenzano R, Schiller B, Rao M, Coyne D, Brenner L, Pereira BJ. Ferumoxytol as an intravenous iron replacement therapy in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(2):386–393.
263. Li H, Wang SX. Intravenous iron sucrose in Chinese hemodialysis patients with renal anemia. *Blood Purif* 2008;26(2):151–156.
264. Lye, Wai-Choong. Ferric gluconate polymaltose complex (Ferrum) is safe and effective for intravenous use in hemodialysis (HD) patients [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1489A.
265. Macdougall IC on behalf of the UK Multicentre IV Iron Study Group. UK Multicentre randomized controlled study of IV Vs oral iron supplementation in dialysis patients receiving epoetin [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:291A.
266. Souza RM, Defferrari R, Karohl C, Barros E, Thome F. Iron status evaluation and iron supplementation therapy in hemodialysis (HD) chronic renal failure (CRF) patients: a randomized clinical trial [abstract]. *Nephrology* 1997;3 (Suppl 1):S307.

267. Wang L, Li G, Liao C, Wang F. The effects of oral vs venous iron supplement in treatment of iron deficiency of maintained patients with anemia [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:842A.
268. Warady BA, Kausz A, Lerner G, Brewer ED, Chadha V, Brugnara C, et al. Iron therapy in the pediatric hemodialysis population. *Pediatr Nephrol* 2004;19(6):655–661.
269. Strickland ID, Chaput de Saintonge DM, Boulton FE, Francis B, Roubikova J, Waters JI. The therapeutic equivalence of oral and intravenous iron in renal dialysis patients. *Clin Nephrol* 1977;7(2):55–57.
270. Svára F, Sulková S, Kvasnická J, Polaković V. Iron supplementation during erythropoietin therapy in patients on hemodialysis [Doplňování železa při léčbě erythropoetinem u hemodialyzovaných pacientů]. *Vnitřní Lekarství* 1996;42(12):849–852.
271. Macdougall IC, Tucker B, Thompson J, Tomson CR, Baker LR, Raine AE. A randomized controlled study of iron supplementation in patients treated with erythropoietin. *Kidney int* 1996. 50(5): p. 1694-1699.
272. Fishbane S, Lynn RI. The efficacy of iron dextran for the treatment of iron deficiency in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1995;44(4):238.
273. Vlahakos DV, Balodimos C, Papachristopoulos V, Vassilakos P, Hinari E, Vlachojannis JG. Renin-angiotensin system stimulates erythropoietin secretion in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1995;43(1):53-59.
274. Kiss Z, Ambrus C, Kulcsár I, Szegedi J, Kiss I. ACEgen-BB HU workgroup. Effect of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and angiotensin-converting enzyme inhibition on erythropoiesis in patients on haemodialysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2015;16(4):1021-1027.
275. Babitt JL, Lin HY. Molecular mechanisms of hepcidin regulation: implications for the anaemia of CKD. *Am J Kidney Dis* 2010; 55: 726–741.
276. Cullen P, Söffker J, Höpfl M, Bremer C, Schlaghecken R, Mehrens T, et al. Hypochromic red cells and reticulocyte haemoglobin content as markers of iron-deficient erythropoiesis in patients undergoing chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(3):659-665.

277. Schaefer RM, Schaefer L. Hypochromic red blood cells and reticulocytes. *Kidney Int Suppl* 1999;69:S44- S48.
278. Rimon E, Levy S, Sapir A, Gelzer G, Peled R, Ergas D, et al. Diagnosis of iron deficiency anemia in the elderly by transferrin receptor-ferritin index. *Arch Intern Med* 2002;162(4):445-449.
279. Agarwal R, Kusek JW, Pappas MK. A randomized trial of intravenous and oral iron in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2015;(Vol88)4: 905-914.
280. Bailie GR, Larkina M, Goodkin DA, Li Y, Pisoni RL, Bieber B, et al. Data from the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study validate an association between high intravenous iron doses and mortality. *Kidney Int* 2015;87:162–168.
281. Weiss G, Kronenberg F. Intravenous iron administration: new observations and time for the next steps *Kidney Int* 2015;(87)1:10–12.
282. Kuragano T, Matsumura O, Matsuda A, Hara T, Kiyomoto H, Murata T, et al. Association between hemoglobin variability, serum ferritin levels, and adverse events/mortality in maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 2014;(86) 4:845–854.
283. Kirkpantur A, Kahraman S, Yilmaz R, Arici M, Altun B, Erdem Y, et al. The effects of maintenance recombinant human erythropoietin therapy on ambulatory blood pressure recordings: conventional, Doppler, and tissue Doppler echocardiographic parameters. *Artif Organs* 2005;29(12):965-972.
284. Tagawa H1, Nagano M, Saito H, Umezu M, Yamakado M. Echocardiographic findings in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin: proposal for a hematocrit most beneficial to hemodynamics. *Clin Nephrol* 1991;35(1):35-38.
285. Pascual J, Teruel JL, Moya JL, Liaño F, Jiménez-Mena M, Ortuño J. Regression of left ventricular hypertrophy after partial correction of anemia with erythropoietin in patients on hemodialysis: a prospective study. *Clin Nephrol* 1991;35(6):280-287.
286. Foley RN, Parfrey PS, Morgan J, Barré PE, Campbell P, Cartier P, et al. Effect of hemoglobin levels in hemodialysis patients with asymptomatic cardiomyopathy. *Kidney Int* 2000;58(3):1325-1335.

287. London GM, Pannier B, Guerin AP, Blacher J, Marchais SJ, Darne B, et al. Alterations of left ventricular hypertrophy in and survival of patients receiving hemodialysis: follow-up of an interventional study. *J Am Soc Nephrol* 2001;12: 2759–2767.
288. Eckardt KU, Scherhag A, Macdougall IC, Tsakiris D, Clyne N, Locatelli F, et al. Left Ventricular Geometry Predicts Cardiovascular Outcomes Associated with Anemia Correction in CKD *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(12): 2651–2660.
289. Dimitrijević Z, Cvetković T, Stojanović M, Paunović K, Djordjević V. Prevalence and Risk Factors of Myocardial Remodeling in Hemodialysis Patients. *Renal Failure* 2009;31(8):662-776.
290. Sakka Y, Babazono T, Sato A, Ujihara N, Iwamoto Y. ACE gene polymorphism, left ventricular geometry, and mortality in diabetic patients with end-stage renal disease. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;64(1):41-49.
291. Nagahara T, Ishigami T, Sano T, Ikeda Y, Hibi K, Uneda S, et al. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients. *Jpn Heart J* 1997;38(6):821-830.
292. Osono E, Kurihara S, Hayama N, Sakurai Y, Ohwada K, Onoda N, et al. Insertion/deletion polymorphism in intron 16 of the ACE gene and left ventricular hypertrophy in patients with end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5):725-730.
293. Mancini DM, Katz SD, Lang CC, LaManca J, Hudaihed A, Androne AS. Effect of erythropoietin on exercise capacity in patients with moderate to severe chronic heart failure. *Circulation* 2003; 107(2):294-299.
294. van der Meer P, Voors AA, Lipsic E, Smilde TD, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Prognostic value of plasma erythropoietin on mortality in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(1):63-67.
295. Drüeke TB, Locatelli F, Clyne N, Eckardt KU, Macdougall IC, Tsakiris D, et al. CREATE Investigators Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med* 2006; 355(20):2071-2084.

Popis skraćenica

ACE (*engl. angiotensin converting enzyme*, angiotenzin konvertujući enzim)

ACEi (*engl. angiotensin converting enzyme inhibitors*, inhibitor angiotenzin-konvertirajućeg enzima)

AIM (*engl. acute myocardial infarct*, akutni infarkt miokarda)

AT1R (*engl. angiotensin II receptor blocker*, angiotenzin II tip 1 receptor)

Bcl –XL (*engl. B-cell lymphoma-extra large*, regulatorni molekul Bcl familije gena)

Bcl-2 protein (*engl. Apoptosis regulator Bcl-2*, inhibitor apoptoze, regulatorni molekul Bcl familije gena)

BFU-E (*engl. burst-forming unit-erythroid*, eritroidni progenitor)

BMI (*engl. body mass index*, indeks mase tela)

CFU-E (*engl. colony-forming unit-erythroid*, eritroidni progenitor)

CHCr (*engl. cellular hemoglobin concentration reticulocyte*, koncentracija hemoglobina u retikulocitima)

CHF (*engl. congestive heart failure*, KSS, kongestivna srčana slabost)

CHr (*engl. reticulocyte hemoglobin content*, sadržaj hemoglobina u retikulocitu)

CKD (*engl. chronic kidney disease*, hronična bolest bubrega)

CRAS (*engl. Cardio-renal anemia syndrome*, sindrom kardioresnalne anemije)

CRP (*engl. C reactive protein*, C-reaktivni protein u serumu)

CVD (*engl. cardiovascular disease*, kardiovaskularne bolesti)

DMT 1 (*engl. divalent metal transporter*, dvovalentni transporter metala 1)

DNK (*engl. deoxyribonucleic acid*, dezoksiribonukleinska kiselina)

EF (*engl. ejection fraction*, ejekciona frakcija leve komore)

Epo (*engl. erythropoietin*, eritropoetin)

EpoR (*engl.erythropoietin receptor*, receptor za eritropoetin)

ESRD (*engl.end-stage renal disease*, terminalna bolest bubrega)

Fpn 1 (*engl.ferroportin 1*, Ferroportin 1)

Geometrija RWT (*engl.left ventricular geometry*, promena geometrije leve komore)

GFR (*engl.glomerular filtration rate*, stepen glomerulske filtracije)

HCP1 (*engl.heme carrier protein 1*, protein1 nosač hema)

HCT (*engl.hematocrit*, hematokrit)

HD (*engl.hemodilysis*, hemodijaliza)

HGB (*engl.Hb*, Hgb, hemoglobin, haemoglobin, hemoglobin)

HIF-1 (*engl.Hypoxia-inducible factor*, hipoksijom indukovani faktor 1)

HLK (*engl.left ventricular hypertrophy*, hipertrofija leve komore)

HRC (*engl.percentage of hypochromic red blood cells*, procenat hipohromnih eritrocita)

HRE (*engl.Hypoxia response elements*, elementi odgovora na hipoksiju)

IBS (*engl.ischaemic heart disease*, ishemijska bolest srca)

IDA(*engl. iron defitient anemia*, anemija zbog deficit gvožđa)

iEVD (*engl.end diastolic volume index*, volumen leve komore)

IMP (*engl. integrin mobile ferin patway*, put integrin-mobilni ferin)

IREs (*engl.iron responsive elements*, gvožđe responsivni elementi)

IRP (*engl.iron regulatory protein*, gvožđe regulišući protein)

IVSd (*engl.interventricular septum thickness*, debljina interventrikularnog septuma u dijasoli)

K/DIGO (*engl.Kidney disease global improving outcome*, Globalno popravljanje ishoda bolesti bubrega)

LV Mass (*engl.left ventricle mass*, masa leve komore)

LVEDd (*engl.end-diastole left ventricle diameter*, endodijastolni dijametar leve komore)

LVMi (*engl.left ventricular mass index*, indeks mase leve komore na jedinicu površine tela)

MACE (*engl.major adverse cardiac events*, glavni neželjeni kardijalni događaji)

MCHC (*engl.mean corpuscular hemoglobin concentration*, srednja koncentracija hemoglobina u eritrocitu)

MCV (*engl.mean cellular volume*, srednja zapremina eritrocita)

MCVr (*engl.mean reticulocyte corpuscular volume*, srednja zapremina retikulocita)

NCDs (*engl.non-communicable disease*, masovne nezarazne bolesti)

NKF (*engl.National kidney foundation*, Nacionalna fondacija za bolesti bubrega)

NKF K/DOQ I (*engl.National kidney fondation. Kidney disease outcomes quality initiative*, Inicijativa o kvalitetu ishoda bolesti bubrega Nacionalne fondacije za bolesti bubrega)

PCFT (*engl.proton-coupled folate transporter*, proton-vezani folatni transporter)

PCR (*engl. polymerase chain reaction*, reakcija lančane polimerizacije)

PWTd (*engl.posterior wall thickness*, debljina zadnjeg zida leve komore na kraju dijastole)

RAS (*engl.renin angiotensin system*, sistem renin-angiotenzin)

RBC (*engl.red blood count*, broj eritrocita)

REPs (*engl.epo-producing cells*, renal erythropoietin producing cells, epo produkujuće ćelije)

RES (*engl.reticuloendothelial system*, retikuloendotelni sistem)

rHu Epo (*recombinant human erythropoietin*, rekombinatanatni humani eritropoetin)

RNK (*engl.ribonucleic acid*, ribonukleinska kiselina)

RRT (*engl. renal replacement therapy*, modaliteti terapije zamene bubrežne funkcije)

Rtc (*engl. reticulocyte count*, broj retikulocita)

RWT (*engl. relative wall thickness*, relativna debljina zida leve komore)

sFe (*engl. serumsko gvožđe*)

sTfR (*engl. soluble transferrin receptor*, transferinski receptor)

Tf (*engl. transferrin*, transferin)

TfR1/feritin (*engl. TfR1/logFR ratio*, odnos solubilnog transferinskog receptora i feritina)

TIBC (*engl. total iron-binding capacity*, ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa)

TSAT (*engl. transferrin saturation levels*, procenat saturacije transferina gvoždem)

ZPP (*engl. zinc protoporphyrin*, cink protoporfirin)

Biografija

Edvin Hadžibulić je rođen 20.12.1973. godine u Novom Pazaru.

Osnovnu i srednju medicinsku školu završio je u Novom Pazaru.

Medicinski fakultet u Prištini je upisao 1993. godine, koji je završio 1999. godine sa srednjom ocenom 7.82.

Zasnivao je radni odnos u Zdravstvenom centru Novi Pazar 1999. godine.

2002. godine je upisao specijalizaciju iz interne medicine na Medicinskom fakultetu u Nišu, koju je završio 2006. godine.

2007. godine je odbranio magistarski rad pod mentorstvom Prof dr Aleksandra Nagornog pod nazivom “ Klinički i endoskopski parametri ranog recidivirajućeg krvarenja duodenalnog i želudačnog ulkusa” na Medicinskom fakultetu u Nišu.

2011. godine stekao je zvanje specijaliste nefrologa na Medicinskom fakultetu u Beogradu, sa odličnom ocenom.

Od 2009. godine je načelnik Službe nefrologije sa Centrom za hemodijalizu Opšte bolnice Novi Pazar, od 2014. godine je pomoćnik direktora Opšte bolnice Novi Pazar za naučno-istraživački rad i unapređenje opšte bolnice.

Oženjen je, otac troje dece.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani **EDVIN B. HADŽIBULIĆ**

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

UTICAJ TERAPIJE GVOŽĐEM I ERITROPOETINOM I POLIMORFIZMA ACE D/I NA SUZBIJANJE ANEMIJE KOD BOLESNIKA NA HRONIČNOJ HEMODIJALIZI

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 30.05.2016.

Hadžibulić Edvin

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora **EDVIN B. HADŽIBULIĆ**

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada **UTICAJ TERAPIJE GVOŽĐEM I ERITROPOETINOM I
POLIMORFIZMA ACE D/I NA SUZBIJANJE ANEMIJE KOD BOLESNIKA
NA HRONIČNOJ HEMODIJALIZI**

Mentor **Profesor dr Marina S. Savin**

Potpisani **EDVIN B. HADŽIBULIĆ**

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 30.05.2016

Hadžibulić Edvin

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

UTICAJ TERAPIJE GVOŽĐEM I ERITROPOETINOM I POLIMORFIZMA ACE D/I NA SUZBIJANJE ANEMIJE KÓD BOLESNIKA NA HRONIČNOJ HEMODIJALIZI

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

U Beogradu, 30.05.2016.

Potpis doktoranda

Hadzićević Elvir

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.