

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Jovana J. Kušić Miličević

**UTICAJ KONCENTRACIJE MAGNEZIJUMA U
DIJALIZNOJ TEČNOSTI NA RAZVOJ ATEROSKLEROZE
BOLESNIKA NA HRONIČNOM PROGRAMU
HEMODIJALIZE**

doktorska disertacija

Beograd, 2021

UNIVERSITY OF BELGRADE

SCHOOL OF MEDICINE

Jovana J. Kusic Milicevic

**IMPACT OF DIFFERENT DIALYSATE MAGNESIUM
CONCENTRATIONS ON ATHEROSCLEROSIS
EVOLUTION IN PATIENTS RECEIVING CHRONIC
HAEMODIALYSIS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2021

MENTOR:

Prof. dr Gordana Dragović Lukić, redovni profesor na katedri farmakologije Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

KOMENTOR:

Prof. dr Aleksandar N. Nešković, redovni profesor na katedri interne medicine Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

1. Prof. dr Sonja Vučković, redovni profesor na katedri farmakologije Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Silvio De Luka, redovni profesor na katedri patofiziologije Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Dejan Petrović, redovni profesor na katedri nefrologije Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Kragujevcu

Datum odbrane: _____

Zahvaljujem se svojim kolegama - lekarima, medicinskim sestrama i tehničarima sa odeljenja Nefrologije sa dijalizom i sa odeljenja Radiologije KBC Zemun - na izuzetnoj podršci i nesebičnoj pomoći prilikom izrade disertacije.

Zahvaljujem se svojoj mentorki, prof. dr Gordani Dragović Lukić, na ukazanom poverenju, prenesenom znanju i podstreku tokom izrade doktorske teze. Zahvalna sam što me je naučila da kritički i ozbiljno pristupam naučnim problemima, ali i kako da trudom i posvećenošću iste uspešno savladam.

Prof. Aleksandru N. Neškoviću sam neizmerno zahvalna za dobronamerne kritike, dragocene sugestije, usmeravanje i motivaciju u nauci i svakodnevnom radu.

Zahvaljujem se doc. dr Radosavu Vidakoviću na izdvojenom vremenu, neprocenjivoj pomoći i korisnim savetima tokom izrade disertacije.

Mojim roditeljima, s ljubavlju i uz veliku zahvalnost, za podršku, osećaj ponosa i neiscrpnu energiju koje svakodnevno pružaju.

Uticaj koncentracije magnezijuma u dijaliznoj tečnosti na razvoj ateroskleroze bolesnika na hroničnom programu hemodijalize

Sažetak:

Uvod: Niske koncentracije serumskog magnezijuma (Mg) su povezane sa visokim rizikom od ateroskleroze. Kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize (HD), vrednost serumskog Mg prevashodno zavisi od koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti. Samim tim, povišene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti predstavljaju potencijalan metod prevencije ateroskleroze među bolesnicima na HD. Ciljevi istraživanja su ispitivanje uticaja različitih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima (0.5 mmol/L prema 1.0 mmol/L) na promenu serumске koncentracije Mg tokom 12 meseci, intradijalizne promene koncentracije ukupnog serumskog i intraeritrocitnog Mg, te posledično na progresiju ateroskleroze među asimptomatskim bolesnicima na hroničnom programu HD.

Metodologija: U istraživanje, po tipu opservacione prospektivne studije, je uključeno 60 bolesnika na hroničnom programu hemodijalize. Ispitanici su bili raspoređeni u dve grupe od po 30 bolesnika u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 ili 1,0 mmol/l) pre započinjanja istraživanja i tokom 12 meseci praćenja. Ukupna serumska i intraeritrocitna koncentracija Mg pre i nakon obavljenog dijaliznog tretmana je određivana kod 43 bolesnika. Uzorci krvi su uzimani u srednjem dijaliznom danu pre obavljene dijalize; ukupna serumska koncentracija Mg je određivana kolorimetrijski, dok je intraeritrocitna koncentracija Mg određivana atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom. Svim bolesnicima je izračunat kalcijumski skor koronarnih arterija (CACS) multislajsnom kompjuterizovanom tomografijom (MSCT) srca na početku istraživanja i nakon 12 meseci redovne hemodijalize. Merenje intimo-medijalnog zadebljanja (IMZ) zajedničke karotidne arterije (ACC) i zajedničke femoralne arterije (AFC) je obavljeno kolor dopler sonografijom na početku istraživanja i nakon 12 meseci praćenja.

Rezultati: U grupi bolesnika kod kojih je primenjivana koncentracija 0,5 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti primećen je značajan pad vrednosti serumskog Mg sa $1,13 \pm 0,15$ mmol/L na $0,99 \pm 0,14$ mmol/L ($p < 0,001$) nakon 12 meseci redovne hemodijalize, dok je u grupi bolesnika kod kojih je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L Mg vrednost serumskog Mg redukovana sa $1,39 \pm 0,22$ mmol/L na $1,29 \pm 0,21$ mmol/L ($p < 0,001$). Razlika u serumskoj koncentraciji Mg između ispitivanih grupa je bila značajna prilikom oba merenja, odnosno i na početku istraživanja i nakon 12 meseci ($p < 0,001$). Serumska koncentracija Mg pre dijalize je bila $1,14 \pm 0,19$ mmol/L i $0,95 \pm 0,16$ mmol/L nakon HD ukoliko je primenjivana niža koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti ($p < 0,001$), dok je iznosila $1,47 \pm 0,25$ mmol/L pre HD i $1,49 \pm 0,18$ mmol/L nakon HD prilikom primene veće koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti ($p = 0,926$). Intraeritrocitna koncentracija Mg je bila $1,98 \pm 0,34$ mmol/L pre HD i $1,97 \pm 0,28$ mmol/L nakon HD ukoliko je primenjivana niža koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti ($p = 0,939$), dok je bila $2,09 \pm 0,37$ mmol/L pre HD i $2,19 \pm 0,48$ mmol/L nakon HD ukoliko je primenjivana veća koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti ($p = 0,067$). Među bolesnicima kod kojih je primenjivana dijalizna tečnost koncentracije 0,5 mmol/L Mg je registrovan porast vrednosti CACS sa $361,90 \pm 725,67$ na $480,00 \pm 783,53$ nakon 12 meseci ($p < 0,001$), dok je kod bolesnika kod kojih je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L Mg u dijaliznim rastvorima CACS uvećan sa $437,71 \pm 573,77$ na $589,07 \pm 682,82$ ($p < 0,001$). Promena CACS (Δ CACS) se nije razlikovala između poređenih grupa ($109,29 \pm 181,99$ vs. $151,86 \pm 211,22$; $p = 0,321$). Progresija IMZ ACC tokom 12 meseci je iznosila $0,03 \pm 0,18$ mm ukoliko je primenjivana niža koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti, odnosno $0,04 \pm 0,09$ mm ukoliko je primenjivana veća koncentracija Mg u

dijaliznoj tečnosti ($p=0,868$). Progresija IMZ AFC tokom 12 meseci je iznosila $0,02\pm 0,24$ mm ukoliko je primenjivana niža koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti, odnosno $0,06\pm 0,25$ mm ukoliko je primenjivana veća koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti ($p=0,531$).

Zaključak: Uprkos postignutoj većoj serumskoj koncentraciji Mg kod bolesnika koji su dijalizirani tečnostima sa 1,0 mmol/L Mg u poređenju sa bolesnicima koji su dijalizirani tečnostima sa 0,5 mmol/L Mg, nema značajne razlike u progresiji ateroskleroze tokom 12 meseci redovne hemodijalize.

Ključne reči: magnezijum, ateroskleroza, intimo-medijalno zadebljanje, kalcijum skor koronarnih arterija, hemodijaliza

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: medicinska farmakologija

UDK broj:

Impact of different dialysate magnesium on the evolution of atherosclerosis in patients receiving chronic haemodialysis

Abstract

Introduction: An inverse relationship between total serum magnesium (Mg) and atherosclerosis has been previously demonstrated. As serum Mg concentration in dialysis patients mainly depends on dialysate-Mg, the potential beneficial effects of high dialysate-Mg present a possible new option to abate atherosclerosis. The aim of this study was to evaluate total serum Mg change during 12 months of haemodialysis, total serum and intra-erythrocyte Mg change during one dialysis session, and the progression of atherosclerosis in asymptomatic patients on chronic haemodialysis using different dialysate-Mg (0.5 mmol/L vs. 1.0 mmol/L).

Methods: This prospective observational study included 60 patients, distributed in two groups depending on dialysate-Mg used before and throughout the study (0.5 mmol/L vs. 1.0 mmol/L). Total serum and intra-erythrocyte Mg change during one dialysis session were determined only in 43 patients. Blood samples were taken at the mid-week dialysis; total serum Mg was measured colorimetrically and intra-erythrocyte Mg by atomic absorption spectrophotometry. All patients underwent cardiac computed tomography to measure coronary artery calcium score (CACs) and Doppler sonography to measure intima-media thickness (IMT) of common carotid artery (CCA) and common femoral artery (CFA) at the beginning of the study and after 12 months of follow-up.

Results: Total serum Mg decreased from 1.13 ± 0.15 mmol/L to 0.99 ± 0.14 mmol/L ($p < 0.001$) in lower dialysate-Mg group over 12-months, while from 1.39 ± 0.22 mmol/L to 1.29 ± 0.21 mmol/L ($p < 0.001$) in higher dialysate-Mg group. The difference in serum Mg remained significant between the groups both at the baseline and after 12-months ($p < 0.001$). Total serum Mg was 1.14 ± 0.19 mmol/L before and 0.95 ± 0.16 mmol/L after dialysis in patients using lower dialysate-Mg ($p < 0.001$), whereas it was 1.47 ± 0.25 mmol/L before and 1.49 ± 0.18 mmol/L after dialysis in patients using higher dialysate-Mg ($p = 0.926$). Intra-erythrocyte Mg was 1.98 ± 0.34 mmol/L before and 1.97 ± 0.28 mmol/L after dialysis in the lower dialysate-Mg group ($p = 0.939$), while it was 2.09 ± 0.37 mmol/L before and 2.19 ± 0.48 mmol/L after dialysis in the higher dialysate group ($p = 0.067$). In the lower dialysate-Mg group baseline CACS increased from 361.90 ± 725.67 to 480.00 ± 783.53 after 12-months ($p < 0.001$), while in the higher dialysate-Mg group CACS increased from 437.71 ± 573.77 to 589.07 ± 682.82 ($p < 0.001$). The mean CACS change (Δ CACS) did not differ significantly between the study groups (109.29 ± 181.99 vs. 151.86 ± 211.22 ; $p = 0.321$). IMT progression of CCA over 12 months was 0.03 ± 0.18 mm and 0.04 ± 0.09 mm in patients using lower and higher dialysate Mg ($p = 0.868$), respectively. IMT progression of CFA over 12 months was 0.02 ± 0.24 mm and 0.06 ± 0.25 mm in patients using lower and higher dialysate Mg ($p = 0.531$), respectively.

Conclusion: Our study revealed that although patients receiving 1.0 mmol/L dialysate-Mg had higher total serum Mg level compared to those on 0.5 mmol/L dialysate-Mg, this was not associated with lower CACS and IMT progression over 12 months follow-up.

Key words: magnesium, atherosclerosis, intima media thickness, coronary artery calcium score, haemodialysis

The scientific field: medicine

Field of academic expertise: medical pharmacology

UDC No:

SADRŽAJ

1	UVOD	1
1.1	Magnezijum.....	1
1.2	Hronična bubrežna slabost.....	6
1.2.0	Definicija i klasifikacija.....	6
1.2.1	Epidemiologija HBI.....	8
1.2.2	Patofiziologija HBI.....	8
1.2.3	Etiologija HBI.....	9
1.2.4	Klinička slika HBI.....	9
1.2.5	Hemodijaliza.....	10
1.2.6	Ateroskleroza bolesnika na hroničnom programu hemodijalize.....	15
1.3	Značaj magnezijuma u evoluciji ateroskleroze kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize.....	19
2	CILJEVI ISTRAŽIVANJA	22
3	MATERIJAL I METODE	23
3.1	Laboratorijske analize.....	25
3.2	Pregled srca multislajsnom kompjuterizovanom tomografijom.....	27
3.3	Kolor dopler sonografija.....	31
3.4	Statistička analiza.....	32
4	REZULTATI	33
4.1	Kliničke karakteristike bolesnika.....	33
4.2	Rezultati laboratorijskih analiza.....	35
4.3	Vrednosti kalcijumskog skora koronarnih arterija.....	40
4.4	Rezultati MSCT koronarografije.....	44
4.5	Vrednosti intimo-medijalnog zadebljanja.....	44
4.6	Incidencija ishoda tokom perioda praćenja.....	49
5	DISKUSIJA	50
6	ZAKLJUČCI	58
7	LITERATURA	59

1. UVOD

1.1 Magnezijum

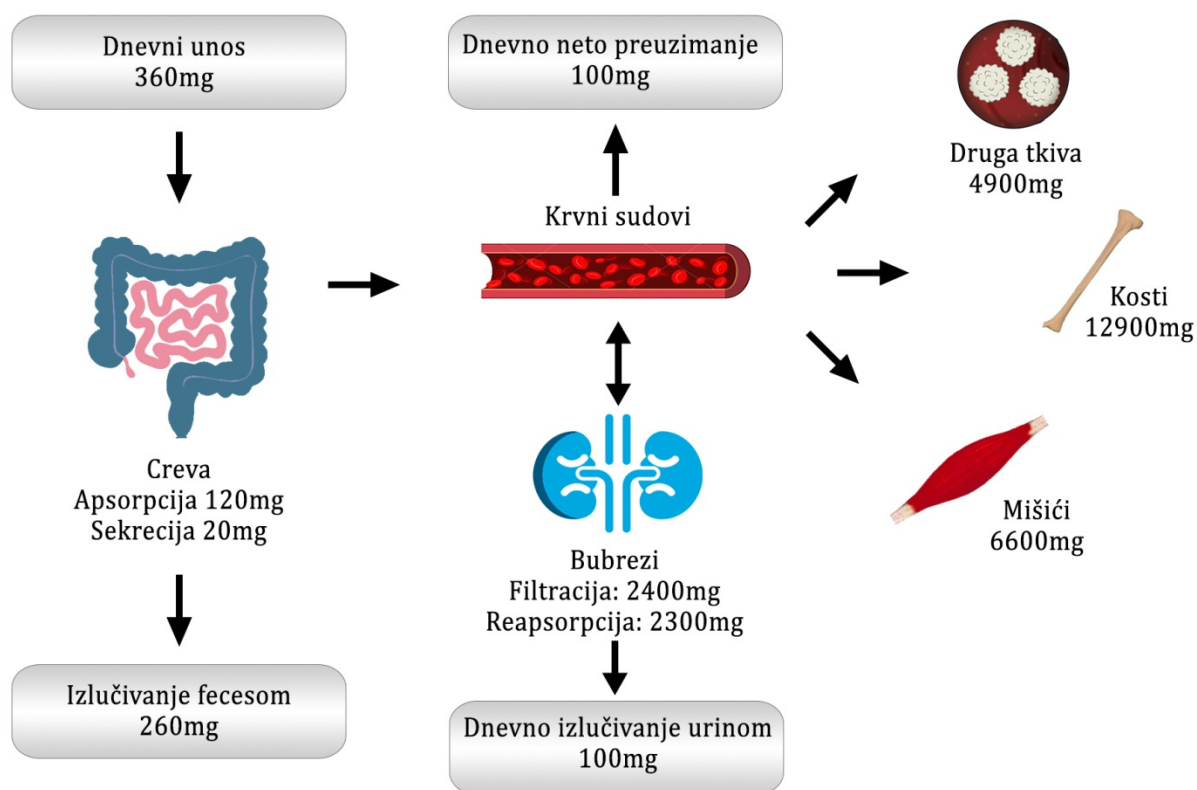
Magnezijum (Mg) je dvovalentni katjon, drugi najčešći intracelularni katjon u našem organizmu, nakon kalijuma (K) (1-4). Najveća koncentracija Mg se nalazi u kostima u obliku hidroksiapatita, oko 50–60% ukupne koncentracije. Na drugom mestu sa 20–30% zastupljenosti su mišići, a na trećem meka tkiva sa oko 20% (1, 2). Zapravo, oko 99% magnezijuma u ljudskom organizmu je u sastavu kostiju, mišića i mekih tkiva, ali se njihova zastupljenost smanjuje starenjem (2, 5).

Ekstracelularni Mg čini oko 1% ukupne koncentracije magnezijuma u ljudskom organizmu, dok je zastupljenost u serumu svega 0,3% (1). Može se naći u tri različita oblika: jonizovani, vezan za proteine ili vezan za anjonske ligande. Jonizovani Mg čini 60–70% ekstracelularnog magnezijuma i pokazuje najveću biološku aktivnost. Oko 20-30% ekstracelularnog Mg je vezano za proteine plazme, uglavnom albumine, dok je 5–10% vezano za anjonske ligande kao što su fosfati, bikarbonati, sulfati ili citrati (1, 2).

Homeostaza, odnosno održavanje ravnoteže Mg u organizmu, zavisi od unosa ishranom, apsorpcije na nivou gastrointestinalnog trakta, preuzimanja i oslobađanja iz koštanog sistema, razmene između intracelularnog i ekstracelularnog prostora, i ekskrecije putem mokraće i stolice (1-5). Prikaz homeostaze Mg je dat na slici 1.

Regulacija homeostaze magnezijuma

Homeostaza Mg se održava u crevima, kostima i bubrezima



Slika 1. Regulacija homeostaze magnezijuma. Preuzeto od Vormann J. Magnesium: Nutrition and Homeostasis. AIMS Public Health. 2016;3(2):329-340.

Preporuke za dnevni unos magnezijuma se određuju prema godinama starosti i polu (6-9). Potrebe za magnezijumom su najmanje kod novorođenčadi i rastu sa godinama starosti, a veće su kod muškaraca nego žena. Prema preporukama Američke nacionalne akademije nauka (*Food and Nutrition Board (FNB) at the Institute of Medicine of the National Academy, formerly National Academy of Sciences*) dnevni unos Mg za muškarce iznosi 410 - 420 mg i za žene 310 - 320 mg; ali se savetuje povećan unos magnezijuma u posebnim stanjima, kao što je trudnoća (6,7). Nasuprot američkim preporukama, Evropska komisija za bezbednost hrane (*European Food Safety Authority; EFSA*) je 2015. godine izdala preporuke prema kojima su dnevne potrebe za magnezijumom značajno manje u odnosu na američke, iznose 350 mg za muškarce i 300 mg za žene. Takođe, prema navedenim evropskim preporukama se ne menja preporučena doza Mg kod trudnica u odnosu na žene iste starosti koje nisu trudne (8,9). Sa aspekta dijetetskog unosa je izuzetno zanimljivo da se u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) tokom poslednjih 100 godina smanjio dnevni unos Mg sa prosečnih 500 mg/dan na svega 175-225 mg/dan (10,11). Ovakav trend kontinuiranog progresivnog smanjenja unosa Mg je najverovatnije posledica ishrane savremenog čoveka 21. veka u vidu češće upotrebe procesuirane, takozvane „brze” hrane, manje upotrebe svežeg povrća i konzumiranja meke vode (4,12). Zapravo, ovakvom ishranom se zadovoljava svega 30-50% od preporučene dnevne doze Mg (11). Nasuprot tome, adekvatnom ishranom obezbeđuje se unos oko 90% dnevnih potreba Mg, dok se oko 10% unosi vodom (4,11). Najbogatiji izvori Mg su zeleno voće i povrće (avokado, brokoli, spanać, kelj), ali i leguminoze, semenke (bundeva, susam, suncokret), orašasti plodovi, tofu, neprerađene žitarice (3-5). Meso, riba i mlečni proizvodi su slab izvor magnezijuma. U skladu sa navedenim, poznato je da striktni vegetarijanci znatno ređe obolevaju od ateroskleroze, ishemijske bolesti srca i hipertenzije (13). Njihova ishrana je zasnovana baš na namirnicama bogatim Mg, čime se i objašnjava smanjen rizik od kardiovaskularnih bolesti.

Kad je svakodnevni dijetetski unos Mg optimalan, oko 30-50% unetog Mg se apsorbuje u crevima. Značajno je da intestinalna apsorpcija nije direktno proporcionalna unosu magnezijuma. Zapravo, ukoliko je smanjen unos Mg putem hrane, apsorpcija na nivou creva se može povećati do 80%. U skladu sa navedenim, kad je ishrana izuzetno bogata Mg, smanjuje se apsorpcija na nivou creva na svega 20% (4,5). Na ovaj način se održava optimalna koncentracija Mg u serumu u skladu sa potrebama organizma.

Dominantno mesto apsorpcije Mg je sluznica tankog creva, iako se delimično odigrava i u debelom crevu (11). Dva osnovna tipa apsorpcije su paracelularna pasivna difuzija i transcelularni transport preko posebne grupe receptora (*transient receptor potential cation channel subfamily M*, TRPM6 i TRPM7). Paracelularna pasivna difuzija predstavlja glavni vid apsorpcije Mg u crevima, koji je zasnovan na elektrohemijском gradijentu i rastvorljivosti (4,11). Pasivni transport Mg je pod kontrolom brojnih hormonski regulisanih intracelularnih signala, čiji uticaj do danas nije dovoljno proučen (5). Dok je tanko crevo glavno mesto apsorpcije magnezijuma, bubrezi su odgovorni za održavanje homeostaze putem eliminacije urinom.

Izlučivanje magnezijuma prati cirkadijalni ritam sa postizanjem maksimuma izlučivanja tokom noći. U fiziološkim okolnostima, oko 2400 mg Mg iz plazme se filtrira kroz glomerule. Od toga se 95% odmah reapsorbuje, dok se 3-5% eliminiše (5). Značajno je napomenuti da se transport Mg razlikuje od ostalih jona obzirom da se najvećim delom reapsorpcija vrši u debelom ascedentnom kraku Henleove petlje, a ne u proksimalnom tubulu. Manji deo, odnosno oko 10%, se apsorbuje u distalnom tubulu. Bubrezi pokazuju veliku sposobnost održavanja homeostaze magnezijuma, nalik puferskom sistemu, sa mogućnošću variranja ekskrecije od 0,5% do 70% u zavisnosti od statusa Mg u telu (14).

Mehanizmi apsorpcije i ekskrecije Mg su hormonski regulisani (5,11,15). Vitamin D (1,25-dihidroksi-holekalciferol) i paratiroidni hormon (PTH) su osnovni hormoni uključeni u regulaciju homeostaze magnezijuma. Vitamin D je zadužen za stimulaciju apsorpcije Mg u crevima, a istovremeno je i sam proces aktivacije vitamina D Mg-zavisan proces (2). Preciznije rečeno, Mg je katalizator konverzije vitamina D (holekalciferol) u aktivnu formu (1,25-dihidroksi-holekalciferol) koja se dešava pod dejstvom enzima jetre (25-hidroksilaza) i bubrega (1- α -hidroksilaze) (2,14-17). Na ovaj način vitamin D utiče na apsorpciju Mg, ali istovremeno i Mg omogućava pojačanu sintezu vitamina D. Sličan uzajamni odnos postoji i između Mg i PTH. PTH utiče na ubrzavanje reapsorpcije Mg u bubrežima, apsorpcije u crevima i oslobađanje iz kosti, za razliku od kalcijuma (Ca) koji antagonizuje te efekte (12). Istovremeno, Mg ubrzava oslobađanje PTH i povećava osetljivost ciljnih tkiva na PTH. Istraživanja su pokazala da je u slučajevima hipomagnezijemije smanjeno hipokalcemijom-indukovano oslobađanje PTH, što se koriguje svega nekoliko minuta nakon infuzije Mg (11). Iz navedenog se može zaključiti da su Mg i PTH međusobno značajno povezani, odnosno da međusobno uslovljavaju pravilno odvijanje fizioloških funkcija.

Značajan aspekt održavanja homeostaze Mg se zasniva na sposobnosti kosti da pri niskim koncentracijama Mg u plazmi, isti oslobađaju. Zapravo, jedna trećina magnezijuma iz kosti učestvuje u popunjavanju ekstracelularnih depoa u slučaju hipomagnezijemije, te na taj način zadovoljava potrebe organizma u održavanju fizioloških koncentracija (2,5). Takođe, u uslovima hipermaagnezijemije kost vezuje Mg. Na prikazani način, koštano tkivo predstavlja rezervoar koji po potrebi nadoknađuje, odnosno vezuje, ekstracelularni Mg. Starenjem se smanjuje mogućnost kosti da deluje kao rezervoar, čak za 50% (5).

Mg u ljudskom organizmu ima višestruke značajne funkcije (1-3,10). Učestvuje kao katalizator u više od 300 enzimskih reakcija, od kojih su najbitnije njegove uloge u regulaciji sedam glikolitičkih enzima i četiri ključna enzima u ciklusu trikarboksilnih kiselina. Učestvuje u formiranju helata sa različitim intracelularnim anjonima, kao što su pirofosfati, adenzin-difosfat (ADP) i adenzin-trifosfat (ATP). Kompleks Mg-ATP je supstrat za brojne procese fosforilacije i predstavlja osnovni izvor energije za funkcionisanje ćelija (18). Kako je ATP neophodan za metabolizam glukoze, sintezu masti, proteina i nukleinskih kiselina, kontrakciju mišića i prenos metil-grupa, na posredan način magnezijum učestvuje u svim navedenim procesima. Samim tim, smatra se da su metabolizam ATP-a, kontrakcije i relaksacije mišića, održavanje neuroloških funkcija i oslobađanje neurotransmitera zapravo Mg-zavisni procesi. Magnezijum je uključen u aktivaciju enzima značajnih u procesu reparacije (endonukleaze), replikacije (topoizomeraza II, polimeraza I) i transkripcije (ribonukleaza) deoksi-ribonukleinske kiseline (DNK), kao i za održavanje integriteta dvostrukog heliksa DNK (19).

Pored navedenog, od izuzetnog značaja je uloga jona Mg u kompeticiji sa jonima Ca za vezivna mesta sa obe strane ćelijskih membrana i na proteinima, te Mg reguliše propustljivost ćelijskih membrana, kretanje elektrolita kroz membranu, vezivanje hormona i agonista za receptore i adheziju ćelija. Primer je antagonistički efekat Ca-zavisnog oslobađanja acetilholina u sinapsama motornih neurona (4).

Sumirano, fiziološke funkcije Mg uključuju: enzimske funkcije, strukturne funkcije (proteini, poliribozomi, nukleinske kiseline, mitohondrije, multienzimski kompleksi - npr. G-proteini, receptorski kompleksi, membranski kanali), membranske funkcije (vezivanje hormona za receptore, blokiranje kalcijumovih kanala, transmembranski fluks jona), antagonist je kalcijuma (kontrakcija i relaksacija mišića, oslobađanje neurotransmitera, sprovođenje akcionog potencijala), utiče na adenilat ciklaza sistem i oslobađanje kalcijuma, ima značajnu ulogu u održavanju mineralnog metabolizma kosti kao i u regulaciji tonusa zida krvnog suda.

Na osnovu pomenutih mnogobrojnih funkcija u ljudskom organizmu, značaj magnezijuma je veliki u prevenciji i lečenju brojnih oboljenja. Dosadašnje eksperimentalne i opservacione studije su pokazale da povećan unos Mg potencira njegove povoljne efekte, prevashodno poboljšanjem metabolizma glukoze, menjanjem lipidnog profila, potenciranjem vazodilatacije posredovane endotelom, ali i antihipertenzivnim i anti-inflamatornim delovanjem (1,20). Značajna uloga Mg u metabolizmu glukoze i insulina se odvija posredno uticajem na insulinsku rezistenciju, ali i direktnim uticajem na aktivnost proteina transportera glukoze. Velike meta-analize su potvrdile da je unos Mg obrnuto proporcionalan razvoju dijabetes melitusa tip 2 i metaboličkog sindroma. Randomizovane studije su potvrdile da suplementacija Mg smanjuje vrednost glikemije kod bolesnika sa rizikom za nastanak dijabetesa i hipomagnezijemijom, kao i da poboljšava osetljivost insulinskih receptora, glikemiju našte i vrednost glikoziliranog hemoglobina (HbA1c) kod obolelih od dijabetes melitusa tip 2 (1,11,12). Takođe, poslednjih godina raste broj studija koje potvrđuju uticaj suplementacije Mg na redukciju vrednosti triglicerida i holesterola, pogotovo u metaboličkom sindromu (1,12,21). *In-vitro* istraživanja su dokazala uticaj serumskog Mg na kontraktilnost glatkih mišićnih ćelija u zidu arterijskih krvnih sudova i endotel, čime se objašnjava uticaj na kontraktilnost krvnog suda (1). Mg inhibira ulazak Ca kroz Ca-kanale, te redukuje vaskularni tonus čime utiče na smanjivanje krvnog pritiska (11,13). Na nivou endotela, acetilholin-indukovana vazodilatacija je takođe Mg-posredovan proces, što potencira uticaj serumskog Mg na vazodilataciju i posredno na održavanje vrednosti krvnog pritiska (1,12).

Hipomagnezijemija, definisana kao vrednost serumskog Mg <0.75 mmol/L, je povezana sa brojnim hroničnim i inflamatornim oboljenjima, kao što su Alchajmerova bolest, astma, insulinska rezistencija, dijabetes mellitus tip 2, hipertenzija, migrena, osteoporoza i kardiovaskularna (KV) oboljenja (11). Deficit magnezijuma korelira sa razvojem ateroskleroze i vaskularnih oboljenja, dok suplementacija magnezijumom može ograničiti ove procese smanjivanjem debljine *tunica intima* i *tunica media* sloja zida krvnog suda (2-4). Uticajem magnezijuma na nastanak i razvoj ateroskleroze ćemo se detaljnije baviti u narednom poglavlju.

Klinička slika hipomagnezijemije i hipermagnezijemije je nespecifična, a pojedini znakovi i simptomi se preklapaju. Manifestacije hipomagnezijemije uključuju tremor, agitiranost, fascikulacije mišića, depresiju i aritmiju (1,12). Rani pokazatelji uključuju gubitak apetita, mučninu, povraćanje i generalizovanu malaksalost. Ukoliko napreduje hipomagnezijemija bez terapijske korekcije nastaju osećaj trnjenja i mravinjanja po koži, ukočenost, grčevi kao i konvulzije praćene promenama u ponašanju. Pored navedenog, kod osoba sa hipomagnezijemijom može nastati spazam koronarnih krvnih sudova i teški poremećaji srčanog ritma po tipu aatrijalne i ventrikularne tahikardije ili *torsades-de-pointes* (11). Progresivna hipomagnezijemija je uglavnom udružena sa ispadima u drugim elektolitima, najčešće Ca i K, te i simptomi koji nastaju usled poremećaja elektrolita mogu da se preklapaju. S druge strane, čak i u slučajevima ozbiljne hipomagnezijemije, klinički znaci mogu biti odsutni. Primećeno je da simptomi uglavnom nastaju kod naglog i brzog razvoja hipomagnezijemije, dok se kod sporijeg nastanka ređe javljaju (4). Kao što je prethodno navedeno, i klinička slika hipermagnezijemije je često suptilna i teška za prepoznavanje, a uglavnom se prepoznaje kad su serumske vrednosti Mg značajno povišene (iznad 2,0 mmol/L). Tegobe uključuju letargiju, hipotenziju, mučninu, povraćanje, smanjenje refleksa. Sa vrednostima serumskog Mg preko 3,0 mmol/L javljaju se hipotenzija, produbljenje poremećaja stanja svesti u vidu somnolentnosti i kome, kao i poremećaji srčanog ritma u vidu aatrijalne fibrilacije, kompletnog srčanog bloka ili asistolije (1,4,11,12).

Postoje različite kvalitativne i kvantitativne metode određivanja koncentracije Mg. Činjenica da je Mg prvenstveno intracelularni jon objašnjava izostanak jednostavnog, brzog i

tačnog laboratorijskog testa za procenu statusa Mg u organizmu. U redovnoj kliničkoj praksi se za procenu stanja magnezijemije najčešće primenjuje ukupni serumski Mg, čiji referentni opseg kod zdravih osoba varira u zavisnosti od primenjenog eseja, ali većinom je 0,76 – 1,15 mmol/L (10,11). Upotreba serumskog Mg je našla široku primenu u kliničkoj praksi, uprkos znanju da njegova vrednost ne korelira sa vrednostima ukupnog telesnog Mg niti sa vrednostima u tkivu (22). To je na prvom mestu posledica činjenice da ekstracelularni Mg čini svega 1% ukupnog telesnog Mg, a sam serum sadrži svega 0.3% ukupnog telesnog Mg (1-3). Na ovaj način se ne može isključiti greška prilikom procene magnezijemije, obzirom da postoje osobe kojima je serumski Mg u referentnom opsegu, dok je ukupni Mg zapravo u deficitu. Takođe, mada u značajno manjem procentu, postoje osobe sa niskim serumskim vrednostima Mg i fiziološkim vrednostima ukupnog telesnog Mg (23). Uprkos pomenutim nedostacima, prednosti merenja ukupnog serumskog Mg u rutinskoj praksi su njegova dostupnost i jednostavnost metode (1-3,10,11,23). Preciznija metoda bi podrazumevala određivanje jonizovanog Mg u serumu ili plazmi koja je dostupna u nekim ustanovama, ali ni na ovaj način se ne odvaja stvarni jonizovani Mg od Mg vezanog za organske ili neorganske anjone (10). Stoga su razvijene takozvane jon-selektivne elektrode za određivanje jonizovanog Mg, ali još uvek nisu našle primenu u rutinskoj kliničkoj praksi (9).

U cilju adekvatnije i preciznije procene magnezijemije, razvijene su metode određivanja intracelularne frakcije Mg, kao što je intra-eritrocitni Mg. Optimalni opseg za intra-eritrocitni Mg je veći nego za serumski, iznosi 1,65 – 2,65 mmol/L (4). Primećeno je da je koncentracija još veća u mladim eritrocitima, što je od značaja kod bolesnika koji primaju eritropoetin. Iz navedenog se zaključuje da je neophodno pažljivo određivanje u eritrocitima i izbegavanje hemolize, kako bi se izbegla pogrešna interpretacija rezultata (10).

Kako se veliki procenat Mg filtrira, ali i reapsorbuje u bubrezima, vrednost Mg u urinu ne korelira sa unesenom količinom Mg niti sa ukupnom magnezijemijom. Samim tim, iako postoje testovi za određivanje Mg u urinu skupljenom tokom 24 časa, ne mogu se smatrati dovoljno preciznom metodom (24). Pojedini autori smatraju da primena ovog testa može biti od značaja za procenu gubitka Mg putem bubrega ukoliko je velika urinarna ekskrecija, dok niske vrednosti ukazuju na nedovoljan unos ili apsorpciju Mg (4). Na osnovu značajne razmene endogenog magnezijuma između različitih telesnih odeljaka i visokog stepena biloškog varijabiliteta u analitičkim merenjima, prema nekim istraživačima je najprecizniji metod određivanja Mg primenom radio-izotopa (^{28}Mg magnezijum) (4). Ipak, poluživot izotopa ($t_{1/2} = 21 \text{ h}$) se ne podudara sa dugačkim poluživotom Mg, te se ova metoda ne primenjuje rutinski (24).

Prema dostupnoj literaturi, još uvek ne postoji optimalan test za precizno određivanje magnezijemije. Uprkos pojedinim ograničenjima, u rutinskom kliničkom i istraživačkom radu najčešću primenu ima vrednost ukupnog serumskog Mg u korelaciji sa kliničkom slikom. Značajan uticaj Mg na regulaciju enzimskih reakcija i bioloških procesa u ljudskom organizmu, utiče na porast broja naučnih istraživanja koja analiziraju različite metode detekcije magnezijemije, ali i mogućnost primene Mg u prevenciji i terapiji različitih oboljenja sa ciljem unapređenja trenutne kliničke prakse.

1.2 Hronična bubrežna slabost

1.2.0 Definicija i klasifikacija

Hronična bubrežna insuficijencija (HBI), odnosno hronična bubrežna slabost, se definiše kao oštećenje strukture ili funkcije bubrega koje traje duže od 3 meseca (25-28). Kriterijumi za postavljanje dijagnoze HBI su vrednost jačine glomerulske filtracije (JGF) manja od 60 ml/min/1.73 m² i/ili prisustvo markera oštećenja bubrežne funkcije, kao što su albuminurija veća od 30 mg tokom 24h, patološki nalaz urinarnog sedimenta (eritorociturija, leukociturija, cilindurija, proteinurija), elektrolitni disbalans, biopsijom bubrega potvrđene patohistološke promene, strukturne promene bubrega potvrđene radiografskom dijagnostikom i/ili podatak o prethodnoj transplantaciji bubrega (25). Neophodan uslov za ispravno postavljanje dijagnoze hroniciteta je da navedeni kriterijumi traju duže od tri meseca, što čini osnovnu razliku između akutne i hronične bolesti bubrega (25-28).

Pojam hronična bubrežna slabost u kliničkoj praksi podrazumeva širok spektar poremećaja ekskretorne, endokrinološke i metaboličke funkcije bubrega (25). Definiciju HBI je objavila grupa eksperata okupljenih oko Nacionalne fondacije za bubrežne bolesti Sjedinjenih Američkih Država (*National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, KDOQI*) 2002. godine (26). Definicija je internacionalno prihvaćena 2005. godine u okviru globalne inicijative za poboljšanje ishoda bubrežne bolesti (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO*), a ponovo objavljena bez značajnijih promena u poslednjem aktuelnom internacionalnom KDIGO vodiču za definisanje i klasifikaciju HBI (25-29).

Klasifikacija bubrežne slabosti se određuje prema osnovnom oboljenju odnosno prema uzroku bubrežne slabosti, jačini glomerulske filtracije i stepenu albuminurije (25). Osnovno oboljenje koje uzrokuje HBI je ponekad teško dijagnostikovati. Opšta podela uzročnika se zasniva na dva parametra: postojanje ili odsustvo sistemske bolesti i anatomska lokalizacija osnovnog patološkog procesa (25,30). Primeri sistemskih oboljenja koja uzrokuju HBI su hipertenzija, dijabetes, autoimune bolesti kao što je sistemski eritemski lupus, hronična infekcija, malignitet ili genetska oboljenja koja osim bubrega zahvataju i druge organe. Primarne bolesti bubrega, odnosno bolesti u kojima se osnovni patološki proces koji uzrokuje HBI odvija u samom bubregu, su renalna kalkuloza, fokalni i difuzni glomerulonefritis, opstruktivna nefropatija, policistična bolest bubrega, pijelonefritis. Prema anatomske lokalizaciji, oboljenja bubrega mogu biti na nivou glomerula, tubulointersticijuma, krvnih sudova ili u formi cistične/kongenitalne bolesti bubrega. U zavisnosti od osnovnog oboljenja koje uzrokuje HBI, odnosno u zavisnosti od lokalizacije patološkog procesa, razlikuje se i prognoza bolesti, klinička slika i terapija bolesnika sa HBI. Zbog svega navedenog je istaknut značaj pravovremenog postavljanja dijagnoze osnovnog oboljenja. Stoga, u skladu sa preporukama KDIGO vodiča za procenu i terapiju HBI, a u cilju postavljanja dijagnoze, savetuje se uzimanje detaljne lične, porodične i socio-epidemiološke anamneze, prikupljanje podataka o lekovima koje bolesnik koristi, detaljan fizikalni pregled bolesnika, analiza i procena laboratorijskih parametara i radioloških nalaza (25). Međutim, uprkos obavljenim laboratorijskim i dijagnostičkim pretragama, nije uvek moguće pouzdano utvrditi uzrok bubrežnog oboljenja (27,29). Prema podacima iz registra Evropske asocijacije nefrologa (*European renal association – European dialysis transplantation association, ERA - EDTA*), prevalencija bolesnika sa nepoznatim uzrokom HBI u različitim evropskim zemljama varira između 0,1% (Estonija) i 38,5% (Rumunija). Prevalencija bolesnika sa nepoznatim uzrokom HBI u Srbiji iznosi 7,7% (31).

Procena JGF je trenutno jedan od najčešće primenjivanih i najdostupnijih metoda za postavljanje dijagnoze i gradiranje bubrežne slabosti (32,33). Predstavlja odraz prevashodno

ekskretorne funkcije bubrega, a određuje se različitim matematičkim formulama koje upoređuju parametre kao što su rasa, pol, godine starosti, vrednosti kreatinina i cistatina C (25). Vrednost JGF <60 ml/min/1,73m² značajno korelira sa mortalitetom, progresijom HBI i nastankom terminalne faze bubrežne slabosti (32). Iako je određivanje JGF putem matematičkih formula baziranih na vrednostima kreatinina jednostavno i dostupno u kliničkoj praksi, pod specifičnim okolnostima (npr. u populaciji starijih bolesnika ili prilikom velikog gubitka mišićne mase) ne daje tačnu procenu (25,32,33). Ipak, kako ne postoji konkurentnija metoda za procenu bubrežne funkcije, prema aktuelnim internacionalnim vodičima za gradiranje bubrežne funkcije se i dalje primenjuje procena JGF (Tabela 1) (25-30).

Tabela 1. Klasifikacija hronične bubrežne slabosti na osnovu jačine glomerulske filtracije

Stadijum	JGF (ml/min/1,73 m ²)	Opis*
1	≥ 90	oštećenje bubrežne funkcije sa normalnom ili povećanom JGF
2	60-89	oštećenje bubrežne funkcije sa lakim smanjenjem JGF
3a	45-59	oštećenje bubrežne funkcije sa lakim do umerenim smanjenjem JGF
3b	30-44	oštećenje bubrežne funkcije sa umerenim do teškim smanjenjem JGF
4	15-29	oštećenje bubrežne funkcije sa teškim smanjenjem JGF
5	<15	otkaz bubrežne funkcije

*U odsustvu dokaza bubrežnog oštećenja (npr. proteinurija ili policistična bolest bubrega), stadijum 1 i 2 ne ispunjavaju kriterijume za HBI

Prema KDIGO klasifikaciji, terminalna faza bubrežne slabosti predstavlja ireverzibilni gubitak bubrežne funkcije kad je JGF manja od 15 ml/min/1,73m². Terminalna bubrežna insuficijencija (TBI), odnosno terminalna faza HBI, dovodi do smrtnog ishoda ukoliko se ne započne dijaliza ili uspešna transplantacija bubrega (25-27).

Jedan od važnih markera za procenu oštećenja bubrežne funkcije je albuminurija. Vrednost albuminurije veća od 30 mg tokom 24 časa je jedan od kriterijuma za postavljanje dijagnoze HBI ukoliko je trajanja duže od 3 meseca. Kategorije albuminurije u HBI su prikazane u tabeli 2 (25).

Tabela 2. Kategorije albuminurije u hroničnoj bubrežnoj slabosti

Stadijum	Albuminurija (mg/24h)	Opis
1	< 30	Normalna do lako povišena
2	30 – 300	Umereno povišena
3	> 300	Izrazito visoka

1.2.1 Epidemiologija HBI

Hronična bubrežna slabost predstavlja globalni zdravstveni problem (26). Detaljna analiza epidemioloških promena učestalosti i rasprostranjenosti HBI je pokazala da ukupan broj obolelih od HBI čini 9,1% svetske populacije, odnosno oko 700 miliona ljudi. Učestalost stadijuma 1-2 je najveća i iznosi 5% svetske populacije, stadijuma 3 je 3,9%, stadijuma 4 je 0,16%. Stadijum 5 ima učestalost 0,07%, od čega je učestalost dijalize 0,041% i transplantacije bubrega 0,011% (34). U periodu od 1990. do 2017. godine je primećen porast ukupne prevalencije HBI za 29,3%. Ipak, tokom navedenog perioda praćenja, prevalencija standardizovana po godinama starosti je ostala neizmenjena. Primećeni porast incidencije TBI govori u prilog povećanoj raspoloživosti metoda zamene bubrežne funkcije, što potvrđuje podatak da je u navedenom periodu porastao broj dijaliza za 43,1% i broj transplantacija bubrega za 34,4%. Uprkos ovakvom porastu, i dalje postoje zemlje sa velikim brojem bolesnika sa HBI u kojima metode zamene bubrežne funkcije nisu dostupne ili su ograničene mogućnosti njihove primene.

Prema rezultatima navedenim u najnovijem ERA EDTA registru incidencija započinjanja neke od metoda zamene bubrežne funkcije u Srbiji iznosi 552 (87,8 na milion stanovnika), dok prosečna starost bolesnika iznosi 61 godinu (31). U svim evropskim zemljama obuhvaćenim ovim registrom hemodijaliza (HD) je bila osnovni modalitet započinjanja zamene bubrežne funkcije sa zastupljenošću 84%, u poređenju sa peritoneumskom dijalizom (PD) 11% i transplantacijom bubrega 5%. Ukupan broj bolesnika kod kojih je primenjivana neka od metoda zamene bubrežne funkcije u Srbiji 2017. godine je bila 4850, odnosno 712 na milion stanovnika, prosečne starosti 61,2 godine. Na osnovu ovih podataka, Srbija spada u zemlje sa manjom prevalencijom (31). U 2017. godini u svetu je registrovan mortalitet zbog HBI kod 1,2 miliona ljudi i kod 1,4 miliona zbog kardiovaskularnih bolesti (KVB) povezanih sa HBI, što zajedno čini 4,6% od ukupnog mortaliteta u 2017. godini (34). Porast mortaliteta od HBI od 1990. do 2017. godine u svetu je 41,5%, postavljajući HBI na 12. mesto kao uzrok smrti, dok je u Srbiji smanjena stopa mortaliteta sa 20,7% na 16,7% u periodu 1997-2009. godine (34,35).

1.2.2. Patofiziologija HBI

Redukcija bubrežne mase, dijabetesna/hipertenzivna nefropatija, oštećenje glomerula, policistična bolest bubrega i hronični tubulointersticijski nefritis predstavljaju različite mehanizme oštećenja bubrežne funkcije (36). Iako se ovi patofiziološki mehanizmi međusobno razlikuju, pojedine karakteristike progresije HBI su identične (36,37).

Tkivo bubrega poseduje mali regenerativni kapacitet. Trajna ili ponavljana povreda tkiva bubrega rezultira nagomilavanjem kolagena u glomerulu i tubulointersticijumu, odnosno dovode do glomeruloskleroze i tubulointersticijalne fibroze (38,39). Posledično dolazi do gubitka normalne arhitektonike tkiva bubrega praćene oštećenjem kapilara, hipoksijom i tubularnom atrofijom (38-40). U svim mehanizmima progresije bubrežne slabosti uključeni su različiti medijatori inflamacije, kao što su sistem komplementa, citokini, hemokini, faktori rasta i vazoaktivni molekuli koji ubrzavaju intersticijalnu fibrozu (39-42). Hronična inflamacija i progresivna fibroza produbljuju renalnu atrofiju, ubrzavaju stvaranje ožiljnog tkiva i pad JGF. Krajnji rezultat je gubitak kapaciteta filtracije bubrega što dovodi do progresije bubrežne slabosti (38).

Nezavisno od etiologije, progresija HBI uključuje kompenzatorne mehanizme kao što su hipertrofija i hiperfiltracija preostalih neoštećenih nefrona (37). Ovakav odgovor tkiva bubrega na redukciju broja nefrona je posredovan različitim vazoaktivnim supstancama uključujući renin-angiotenzin-aldosteron sistem (RAAS). Prikazani kompenzatorni mehanizmi

samo privremeno održavaju JGF u normalnom opsegu, ali postaju maladaptivni usled konstantnog uticaja povišenog intraglomerularnog pritiska i povišenog protoka u kapilarima glomerula (38). Povišen intraglomerularni pritisak rasteže zidove glomerula, čime dovodi do direktnog oštećenja ćelija, utičući na povećanje permeabilnosti kapilara glomerula. RAAS dodatno narušava selektivnost kapilara glomerula, što rezultira povećanjem proteinurije. Opisani mehanizam podstiče inflamatorni odgovor i sintezu kolagena i fibronektina, te inicira proces intersticijalne fibroze. Na ovaj način progredira glomeruloskleroza i fibroza u preostalim nefronima, odnosno dolazi do redukcije očuvanog tkiva bubrega i dalje progresije HBI (39-41).

1.2.3. Etiologija HBI

U razvijenim zemljama, odnosno zemljama visokog i srednjeg ekonomskog razvoja, najčešći uzroci HBI su dijabetes i hipertenzija (29). U pojedinim zemljama niskog ekonomskog statusa, pored dva navedena dominantna uzroka HBI, česti uzroci bubrežne slabosti su oštećenja glomerula i tubula infekcijama, toksinima i lekovima (29,43). Značajno je da u ranim fazama HBI manje od 5% bolesnika ima postavljenu dijagnozu bubrežne slabosti. Na taj način bolest je asimptomatska ili sa nespecifičnim simptomima tokom dužeg vremenskog perioda, te kad se dijagnostikuje u kasnim fazama kod mnogih bolesnika je nemoguće utvrditi etiološke faktore koji su do nje doveli (30,37).

Prema podacima prikupljenim iz nacionalnih registara Republike Srbije, u periodu 1997-2009. godine registrovano je smanjenje obolelih od glomerulonefritisa, a porastao od dijabetesa i hipertenzije kao osnovnog bubrežnog oboljenja (35). U Republici Srbiji je najčešći uzrok HBI hipertenzija (25,1%), zatim glomerulonefritis (18,3%), dijabetes melitus (17,6%), pijelonefritis (10,6%), policistična bolest bubrega (6,6%) i renovaskularna bolest (1,1%). Uzrok HBI je nepoznat kod 7,7% obolelih, a drugi/nenavedeni uzroci su prisutni kod 14,2% obolelih (31).

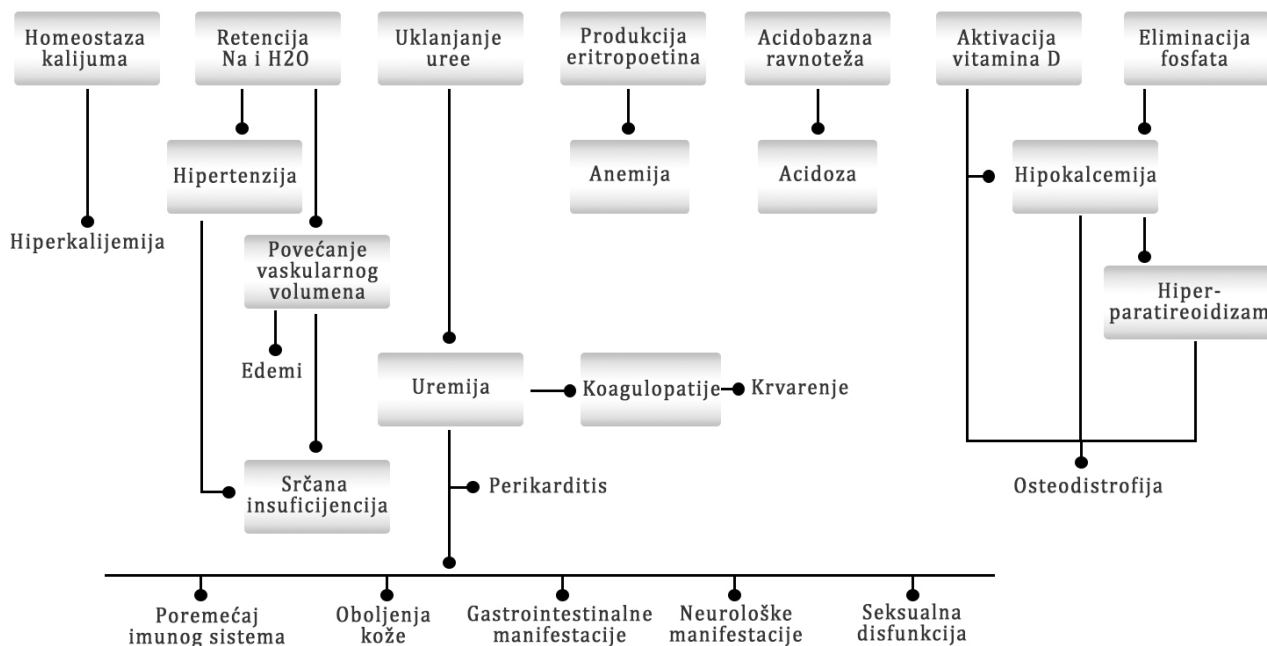
1.2.4. Klinička slika HBI

Klinička slika HBI uglavnom počinje nespecifičnim, često neprepoznatim simptomima. Bolest je inicijalno uglavnom asimptomatska, dok se ne razvije slika uznapredovale bubrežne slabosti ili se dijagnostikuje na osnovu rutinski obavljenih ultrazvučnih pregleda ili laboratorijskih pretraga (29,30). Neki od simptoma i znakova koji mogu upućivati na dijagnozu su hematurija, zamućen urin, bol u slabinama i/ili smanjena diureza. Sa daljom progresijom bolesti, klinička slika uključuje simptome i znake svih organskih sistema (npr. mučnina, povraćanje, gubitak apetita, malaksalost, ubrzano zamaranje, sklonost krvarenju, hipervolemija, povišen krvni pritisak, perikarditis, pruritus, ekzorijacije na koži, uremijsko inje, poremećaj stanja svesti, itd), dok su najčešći laboratorijski pokazatelji oboljenja normocitna anemija, poremećaj elektrolita (npr. hiperkalijemija, hipokalcemija, hiperfosfatemija), sekundarni hiperparatireoidizam, deficijencija vitamina D (43-45).

Širok spektar oboljenja i stanja u sklopu HBI zahteva multidisciplinarni terapijski pristup, sa ciljem da se uspori progresija bolesti i poboljša kvalitet života. Sa padom JGF ispod 10-15%, odnosno sa razvojem TBI, dalje preživljavanje bez započinjanja neke od metoda zamene bubrežne funkcije (hemodijaliza, peritoneumska dijaliza, transplantacija bubrega) nije moguće (25,30,37).

Na slici 2 je dat shematski prikaz kliničkih stanja i poremećaja organskih sistema koji nastaju u sklopu, odnosno kao posledica HBI.

Hronična bubrežna slabost



Slika 2. Klinička slika hronične bubrežne slabosti

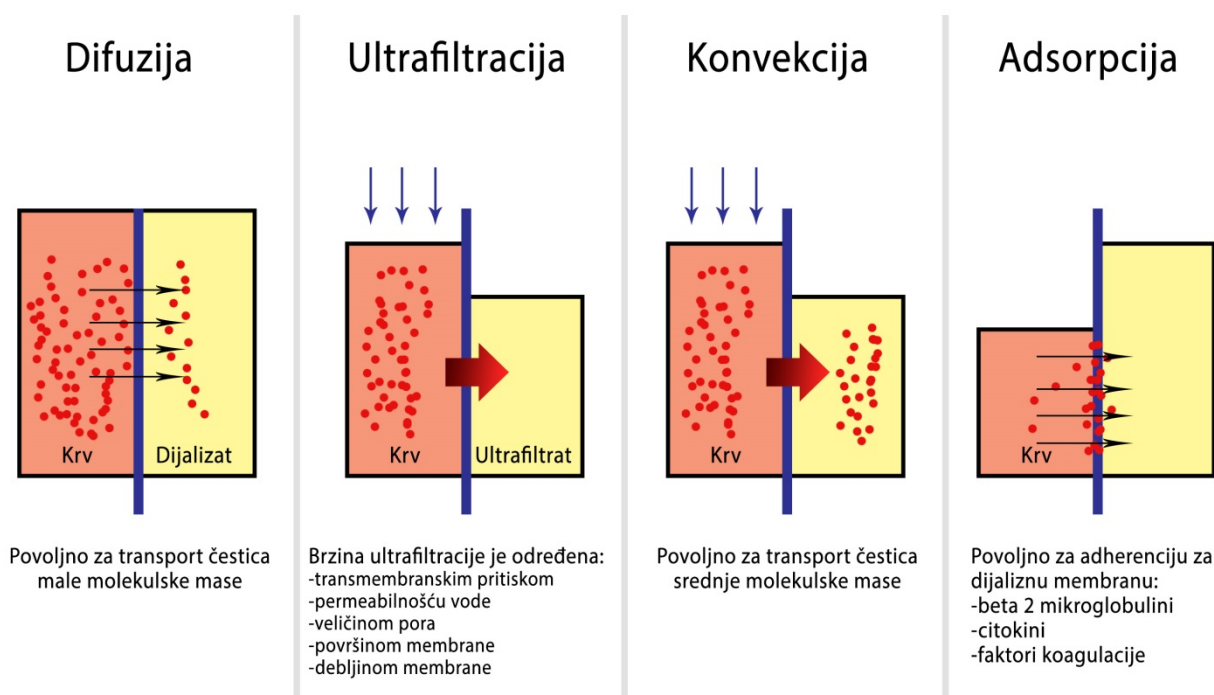
1.2.5. Hemodijaliza

Uvođenje dijalize je značajno poboljšalo preživljavanje i kvalitet života bubrežnih bolesnika. Prema KDIGO kriterijumima, indikacije za započinjanje zamene bubrežne funkcije su simptomi i znaci povezani sa HBI (npr. uremijski perikarditis, neurološki simptomi i znaci kao posledica uremije, anoreksija, acidoza u gasnim analizama ili poremećaj elektrolita refrakteran na farmakološku terapiju), hipervolemija i/ili hipertenzija refrakterna na farmakološku terapiju, progresivni pad nutritivnog statusa (46).

Prva uspešna HD u svetu obavljena je 1945. godine, dok njena primena u lečenju bubrežne slabosti započinje 60. godina XX veka (47). U poređenju sa brzinom razvoja hemodijalize, peritoneumska dijaliza je razvijena značajno kasnije, tek 1978. godine. Odluka o modalitetu dijalize koji će se primenjivati se donosi individualno za svakog bolesnika, a zasniva se na više parametara uključujući dostupnost različitih modaliteta u zavisnosti od države/regiona, iskustva dijaliznog centra, zdravstvenog stanja bolesnika (komorbiditeti, hemodinamska nestabilnost na HD i drugi), mogućnosti kreiranja adekvatnog pristupa za HD odnosno PD, socioekonomskih uslova i ličnih preferencija bolesnika (46). Prema rezultatima ERA-EDTA registra, na prvom mestu prilikom izbora metode zamene bubrežne funkcije je hemodijaliza (84%), zatim peritoneumska dijaliza (11%) i transplantacija bubrega (5%) (31).

Hemodijaliza predstavlja ekstrakorporalno prečišćavanje krvi, a zasniva se na principima difuzije, ultrafiltracije, konvekcije i adsorpcije (47). Difuzija je razmena čestica kroz membranu na osnovu gradijenta koncentracije sa pravcem kretanja čestica iz mesta veće na mesto manje koncentracije, a nastaje kao posledica slobodnog kretanja čestica. Osim koncentracionog gradijenta, stepen difuzije zavisi od molekulske mase čestica i osobine membrane (debljina i poroznost). Ultrafiltracija predstavlja prolazak isključivo tečnosti, bez ćelija i rastvorenih supstanci, kroz membranu na osnovu gradijenta pritiska između krvi bolesnika i dijalizne tečnosti (transmembranski pritisak, TMP). Dok difuzija predstavlja osnovni način uklanjanja uremijskih toksina iz krvi bolesnika u toku dijalize, ultrafiltracija je primarno odgovorna za uklanjanje viška tečnosti (koja se nakupi u interdijaliznom periodu

kroz unos vode i hrane) (47). Konvekcija predstavlja transport tečnosti sa rastvorenim česticama kroz membranu, odnosno transport čestica pod uticajem ultrafiltracije. Osim transmembranskog pritiska, na efikasnost konvekcije utiče površina i permeabilnost dijalizne membrane. U poređenju sa difuzijom, konvektivni transport omogućava brže uklanjanje čestica veće molekulske mase. Adsorpcija predstavlja sposobnost dijalizne membrane da vezuje supstance rastvorene u krvi, uglavnom peptide i proteine, čime se povećava klirens te supstance. Adsorpcija zavisi od sastava membrane i karakteristika same supstance, kao što su veličina, naelektrisanje i struktura (47-49). Osnovni principi dijalize su prikazani na slici 2.



Slika 3. Osnovni principi dijalize: difuzija, ultrafiltracija, konvekcija i adsorpcija

Kako bi se hemodijaliza obavila, neophodan je vaskularni pristup (centralni venski kateter - CVK, arteriovenska fistula - AVF ili arteriovenski graft - AVG) kojim se krv bolesnika odvodi krvnim linijama do dijaliznog aparata gde se vrši prečišćavanje krvi. Prečišćena krv se potom krvnim linijama vraća prema bolesniku preko istog vaskularnog pristupa (49-52).

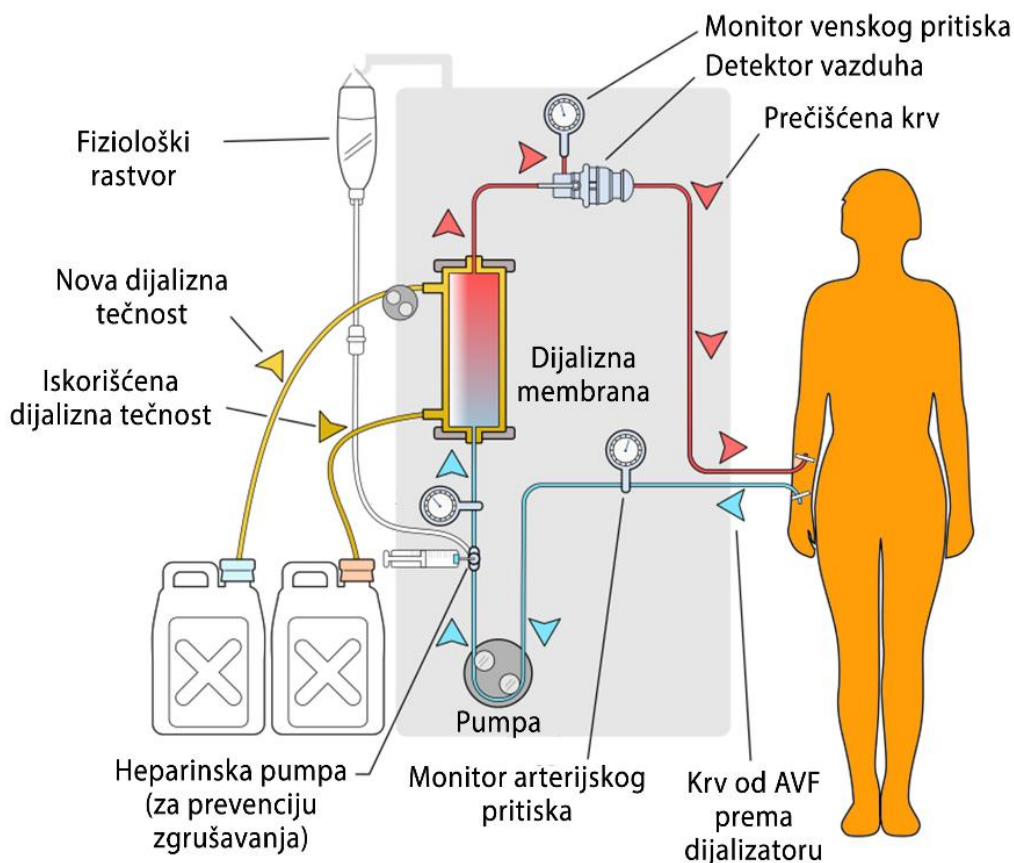
Optimalan vaskularni pristup za bolesnike sa HBI koji se pripremaju za hronični program hemodijalize je fistula. AVF predstavlja hirurški spoj nativnih krvnih sudova (arterije i vene) kojim se omogućava uspostavljanje velike brzine protoka krvi (300 - 500 ml/min) i repetitivna punkcija vaskularnog pristupa sa ciljem da se postigne efikasna dijaliza. Adekvatna AVF omogućava doživotnu primenu, odnosno sve dok postoji potreba za dijalizom. Smatra se da je AVF optimalan vaskularni pristup za HD zbog malog rizika od komplikacija i dugovečnosti primene. Ipak, glavni nedostatak predstavlja period „sazrevanja”, takozvane maturacije fistule koji iznosi od 4 – 6 nedelja, neophodan kako bi fistula bila pogodna za repetitivne punkcije (50-52). Kao alternativni vaskularni pristupi za HD primenjuju se CVK i AVG (46). Prednost CVK je mogućnost primene kod bolesnika koji zahtevaju urgentnu dijalizu u situacijama kada AVF nije pravovremeno kreirana ili se ne može punktirati. Međutim, plasiranje i dugotrajna primena katetera je povezana sa brojnim komplikacijama, uključujući tromboze, pneumotoraks, lokalne infekcije i sepsu (49). AVG kao vaskularni pristup podrazumeva primenu sintetskog materijala/grafta za premošćavanje krvnih sudova.

Primenjuje se kod bolesnika sa fragilnim krvnim sudovima manjeg dijametra i distenzibilnosti, odnosno kada nije moguće kreirati fistulu (49,52). Punkcijom vaskularnog pristupa krv bolesnika se arterijskim krvnim linijama odvodi u dijalizni aparat (slika 3).



Slika 4. Dijalizne mašine Fresenius 5008 i Artis (Gambro)

Glavni segment dijaliznog aparata je dijalizna membrana preko koje se vrši opisana difuzija, ultrafiltracija, konvekcija i adsorpcija uz pomoć odgovarajućih krvnih pumpi, sistema za preradu vode, sistema za antikoagulaciju i monitora/detektora (slika 4). Kako dijalizna membrana predstavlja centralni segment svakog dijalizatora gde se ostvaruje direktan kontakt sa krvlju bolesnika, neophodno je da bude izgrađena od odgovarajućih materijala sa što manjim stepenom bioinkompatibilnosti, kako bi se smanjio rizik od neželjenih reakcija. Iz dijaliznog aparata se prečišćena krv vraća ka bolesniku krvnim linijama (slika 4) (47,48).



Slika 5. Shematski prikaz hemodijaliznog aparata. Preuzeto od *YassineMrabet - Creative Commons license 3.0*

Uz membranu dijalizatora, bitan segment svake hemodijalize je dijalizni rastvor koji predstavlja kombinaciju vode i precizno određenog elektrolitnog rastvora sa puferskim svojstvima. Na osnovu transmembranskog gradijenta koncentracije i pritiska između krvi bolesnika i dijalizne tečnosti se vrši razmena čestica i ultrafiltracija, a posredno i korekcija poremećaja acido-bazne ravnoteže (53). Shodno navedenom, sastav dijaliznog rastvora je presudan za normalizaciju elektrolitnog i mineralnog sastava krvi bolesnika, što se može dokazati brojnim primerima:

- Optimalnim uklanjanjem natrijuma (Na) i vode je omogućeno održavanje odgovarajućeg volumnog statusa bolesnika, ali i prevencija intradijalizne hipotenzije;
- Optimalna koncentracija Ca i Mg u dijaliznom rastvoru omogućava protekciju kardiovaskularnog i koštanog sistema, sprečavajući vankoštane kalcifikacije, teške oblike sekundarnog hiperparatireoidizma i adinamsku bolest kostiju;
- Optimalna koncentracija bikarbonantnog pufera održava stabilnu pH krvi između dijaliznih tretmana čime je omogućeno adekvatno funkcionisanje proteina i ćelijskih membrane;
- Odgovarajuća koncentracija glukoze sprečava teške hiperglikemije, ali i životno-ugrožavajuće hipoglikemije (53).

Sastav dijalizne tečnosti se tokom vremena značajno menjao, uglavnom u odabiru različitih pufera i promeni koncentracije elektrolita (54). Prve supstance primenjivane kao puferi u dijalizi, za korekciju acido-bazne ravnoteže, su bili bikarbonati. Zbog tehničkih komplikacija tokom dijalize sa bikarbonatima, njihova upotreba je zamenjena acetatima. Međutim, kako su acetati pokazali loš profil neželjenih reakcija (mučnina, povraćanje, opšta slabost) i veliki stepen akumulacije u plazmi, u redovnu primenu su 1980. godine ponovo uvedeni bikarbonati (53). Bikarbonati se i danas rutinski primenjuju u hroničnom programu HD, ali se razvijaju i novi puferi za potrebe dijalize, kao što su citrati. Promene u elektrolitnom sastavu dijaliznih tečnosti je značajan zbog mogućnosti individualizacije HD prema specifičnim potrebama svakog pojedinačnog bolesnika (54). Danas su dostupni dijalizni rastvori sa širokim opsegom koncentracija elektrolita: Na (135-145 mM), K (2-3 mM), Ca (1,25-1,75 mM), Mg (0,5-1,0 mM) (49,53). Promene elektrolitnog sastava dijaliznih tečnosti su se godinama unazad uglavnom odnosile na promene u koncentraciji Ca, prevashodno zbog njegovog uticaja na mineralni metabolizam i potencijal u korekciji hiperfosfatemije (54). Iako su drugi elektroliti ranije ređe korigovani, tokom poslednjih godina se registruje porast interesovanja za promene koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima (53).

U skladu sa aktuelnim preporukama, hemodijaliza se u najvećem delu dijalizne populacije primenjuje tri puta nedeljno u trajanju minimum od po 4 sata, iako u zavisnosti od potreba bolesnika mogu da se vrše modifikacije učestalosti i dužine trajanja tretmana (54). Kvalitet obavljenog dijaliznog tretmana, odnosno stepen difuzije čestica, se određuje matematičkim modelima: jačina redukcije ureje (*Urea reduction ratio*; URR) i Kt/V (46,47,54). Jačina redukcije ureje se predstavlja formulom:

$$URR = \frac{\text{urea pre dijalize} - \text{urea posle dijalize}}{\text{urea pre dijalize}} \times 100$$

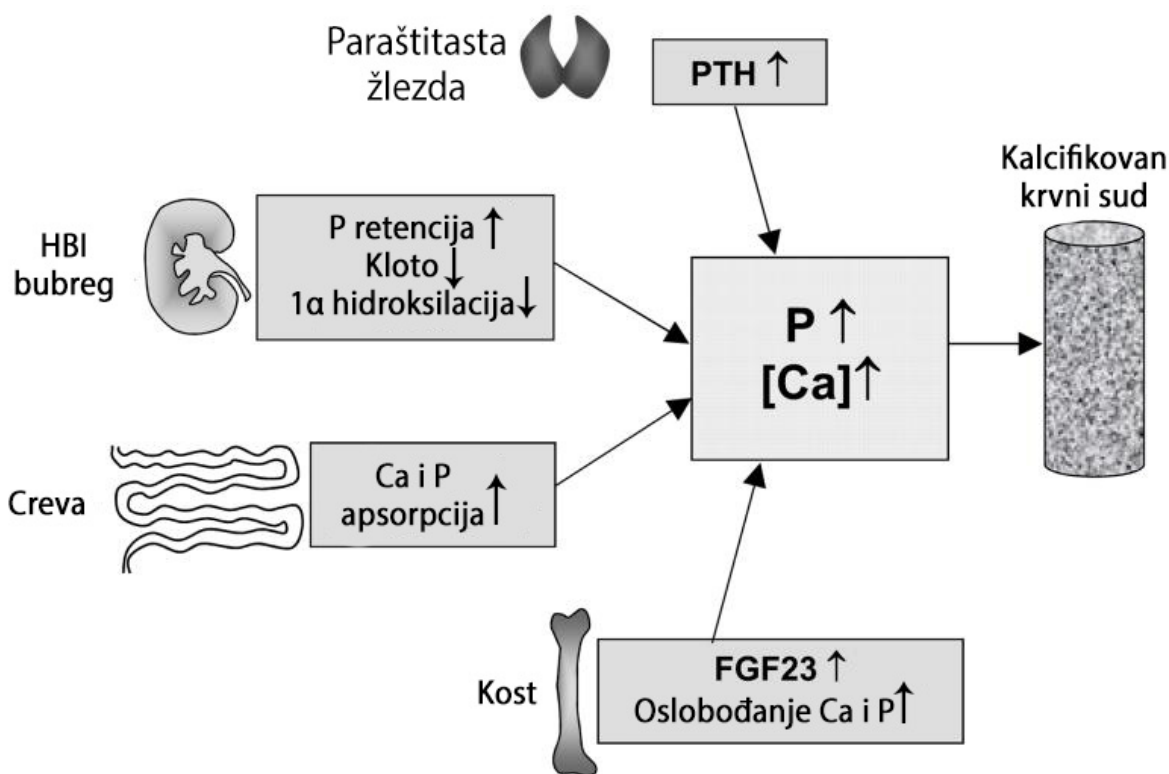
Kt/V predstavlja odnos zapremine plazme koja se očisti od ureje (Kt) i volumena distribucije ureje (V), koja je blizu volumena ukupne telesne vode (49). K predstavlja klirens ureje (L/h), t je vreme trajanja HD (h) i V je volume distribucije ureje (L). Kad Kt/V ima vrednost 1,0 smatra se da je ukupna zapremina krvi očišćena od ureje jednaka volumenu distribucije ureje. Primena ove formule je značajna kao merilo kvaliteta dijalize jer korelira sa preživljavanjem bolesnika na dijalizi. Kad je vrednost Kt/V veća od 1,2, smatra se da je ostvaren zadovoljavajući kvalitet dijalize (55).

1.2.6 Ateroskleroza bolesnika na hroničnom programu hemodijalize

Ateroskleroza predstavlja sistemsko fibroproliferativno zadebljanje arterijskog zida (56). Mnogobrojna istraživanja su dokazala da u populaciji bolesnika sa HBI postoji povišen rizik za razvoj ateroskleroze, kao i da se ateroskleroza razvija ubrzano već od ranih stadijuma bolesti bubrega (56-59). Kao posledica ateroskleroze, KV komorbiditeti i mortalitet su češći kod bolesnika sa HBI u poređenju sa opštom populacijom i značajno progrediraju sa padom JGF (60-64). Istraživanja su pokazala da se sa svakim stadijumom HBI povećava kardiovaskularni rizik za 15%, kao i da je veći rizik za osobe obolele od HBI da razviju kardiovaskularni komorbiditet nego da im osnovna bolest progredira do terminalne faze, tj. do potrebe za zamenom bubrežne funkcije (29,65). Dodatno, u drugom stepenu bubrežne slabosti je rizik od KV mortaliteta 2 - 3 puta viši u odnosu na opštu populaciju, dok je kod bolesnika na hroničnom programu dijalize rizik čak 10 - 100 puta veći (57). Značajno veća stopa mortaliteta je zabeležena kod bolesnika sa vrednostima JGF manjim od 70 ml/min/1,73m². Bolesnici sa JGF između 60 - 74,5 ml/min/1,73m² i 45 - 59,9 ml/min/1,73m² imaju 14% i 38% veći rizik od smrtnog ishoda nakon akutnog infarkta miokarda u poređenju sa bolesnicima sa vrednostima JGF većim od 75 ml/min/1,73m². Takođe, za 70% je veći rizik od smrtnog ishoda kod bolesnika sa vrednostima JGF manjim od 45 ml/min/1,73m² u poređenju sa bolesnicima sa vrednostima JGF većim od 45 ml/min/1,73m² (66). Značajno je pomenuti da se kod bolesnika na hemodijalizi održava najveći mortalitet u prvoj godini HD, pogotovo prva dva meseca od započinjanja hemodijalize (35).

Pored tradicionalnih faktora rizika za razvoj kardiovaskularne bolesti, kao što su dijabetes, hipertenzija, dislipidemija, muški pol, starost i pušenje, u HBI su prisutni i netradicionalni faktori rizika kojima se objašnjava veća učestalost KV morbiditeta i mortaliteta u poređenju sa opštom populacijom (60,61). Iako su netradicionalni faktori rizika mnogobrojni (hipervolemija, anemija, hronična inflamacija, oksidativni stres, uticaj uremijskih toksina, itd), kao najznačajniji se navodi poremećaj mineralnog/koštanog metabolizma (67,68). Poremećaj mineralnog/koštanog metabolizma podrazumeva poremećaj regulacije metabolizma Ca i fosfora (P) i posledično remodelovanje kosti, koje se odvija pod regulacijom PTH, vitamina D, fibroblastnog faktora 23 (FGF-23) i Kloto proteina (69-71).

Disbalans mineralnog/koštanog metabolizma sa pratećim regulatornim procesima, se smatra ključnim faktorom za nastanak i progresiju vaskularnih kalcifikacija u HBI (slika 5) (70). U fiziološkim okolnostima u bubrezima se stvara aktivna forma vitamina D (1,25-dihidroksiholekalciferol; kalcitriol) procesom hidrosilacije 25-hidroksiholekalciferola. Sa smanjenjem vrednosti JGF i mase bubrega ova funkcija je takođe smanjena (37). Kao posledica smanjene sinteze aktivne forme vitamina D, smanjena je intestinalna apsorpcija Ca i P, ali i ekskrecija P urinom. Na opisani način nastaje hiperfosfatemija i hipokalcemija, što predstavlja početni stimulus za lučenje PTH i FGF-23. Istovremeno se smanjuje sinteza Kloto proteina u bubregu, čime se dodatno stimuliše sinteza FGF-23 i PTH. Povišena sinteza FGF-23 produbljuje smanjenje sinteze aktivne forme vitamina D (69-71). Sa daljom progresijom bubrežne slabosti, uglavnom od III stadijuma HBI, prevazilazi se kompenzatorni mehanizam paratiroidne žlezde za održavanje optimalne koncentracije Ca u serumu, te dodatno progredira hiperfosfatemija, razvija se sekundarni hiperparatireoidizam i održavaju se visoke vrednosti FGF-23 u serumu (37,69-71). Kao posledica sekundarnog hiperparatireoidizma dolazi do osteolize i oslobađanja Ca iz kosti, što je praćeno tranzitornom hiperkalcemijom. Ukoliko se kod bolesnika u redovnoj terapiji propiše terapija CaCO₃ sa ciljem regulacije hiperfosfatemije, dodatno se povećava koncentracija serumskog Ca (70).



Slika 6. Faktori uključeni u poremećaj mineralnog/koštanog metabolizma i nastanak vaskularnih kalcifikacija. Preuzeto od: Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res.* 2011;109(6):697-711.

Opisani poremećaj mineralnog metabolizma, odnosno hiperfosfatemija i tranzitorna hiperkalcemija, predstavljaju osnov za dalji razvoj ekstraosealnih kalcifikacija sintezom kompleksa hidroksiapatita (67-69). Kompleks hidroksiapatita predstavlja supstrat za vaskularne kalcifikacije i kalcifikacije mekih tkiva, čime se objašnjava brži razvoj ateroskleroze kod bubrežnih bolesnika u poređenju sa opštom populacijom. Ipak, *in vitro* istraživanja su pokazala da u procesu nastanka vaskularnih kalcifikacija, pored stvaranja depozita hidroksiapatita, učestvuju i drugi mehanizmi (71-73). U uslovima hiperfosfatemije, a pod uticajem povećane transkripcije proteina uključenih u mineralizaciju kosti, dolazi do diferencijacije glatkih mišićnih ćelija arterija u osteohondrocite (70). Glatke mišićne ćelije su u ovom procesu podložne apoptozi, nakon čega se oslobađaju vezikule koje koncentrišu Ca i započinje taloženje hidroksiapatita (73-75). Opisani proces se dešava usled smanjenja ili gubitka inhibitora kalcifikacije. Istovremeno nastaje kalcifikovani ekstracelularni matriks koji se sastoji od kolagena, hondroitin-sulfat proteoglikana, elastina, fibronektina. Ovakva diferencijacija ćelija i kalcifikacija matriksa se odvija isključivo u uslovima hiperfosfatemije, koja je odgovorna za povećanu ekspresiju osteo/hondrogenih gena i istovremeno smanjivanje ekspresije gena za glatke mišićne ćelije krvnih sudova (70). Pored hiperfosfatemije, neophodan uslov za kalcifikaciju zida krvnog suda je ulazak Ca preko Ca-osetljivih receptora (*Ca-sensing receptor*, CaSR), što se najčešće dešava u uslovima tranzitorne hiperkalcemije (73). Faktori koji deluju kao promotori ili inhibitori vaskularnih kalcifikacija su navedeni u tabeli 3 (69).

Tabela 3. Promotori i inhibitori vaskularnih kalcifikacija. Preuzeto od Schlieper G, Schurgers L, Brandenburg V, et al. Vascular calcification in chronic kidney disease: an update. *Nephrol Dial Transplant.* 2016; 31: 31–39.

Promotori kalcifikacije	Inhibitori kalcifikacije
Morfogenetski protein kosti 2, 4 i 6	Gama-karboksiglutamat protein matriksa
Osteokalcin	Osteopontin
Sijaloprotein kosti	Osteoprotegerin
Alkalna fosfataza	Fetuin-A
Joni kalcijuma i fosfora	Kloto
Oksidativni stress	Pirofosfat
Inflamatorni citokini (IL-6, IL-1, TNF)	Karbonska anhidraza
Dijabetes	Morfogenetski protein kosti 7
Holesterol	Vitamin K
Kumarinski derivati	Magnezijum
Vezikule matriksa	Natrijum-tiosulfat
Apoptoza	
Metaloproteinaza matriksa 2, 3 i 7	
Osteohondrogeni transkripcioni faktori (Runx2, Sox9, Osteriks)	

Skraćenice: IL – interleukin, TNF – faktor nekroze tumora

Poznavanje promotora i inhibitora ateroskleroze u HBI omogućava različite terapijske pristupe u cilju sprečavanja ili usporavanja ateroskleroze. U cilju prevencije ateroskleroze danas se u rutinskoj praksi najčešće primenjuje terapija hiperfosfatemije (npr. CaCO₃, sevelamer-karbonat, itd), kontrola serumskog Ca primenom optimalne koncentracije Ca u dijaliznom rastvoru (1,25 – 1,5 mmol/L), kalcimimetici, vitamin D (68-70). Kroz male pilot studije se ispituju novi potencijalni terapijski protokoli kao što su primena preparata Mg ili intravenskog Na-tiosulfata, ali su neophodna dodatna istraživanja u kliničkim uslovima kako bi se unapredila znanja i omogućila adekvatna prevencija razvoja ateroskleroze u populaciji bolesnika na hroničnom programu hemodijalize (68,76).

Pored prethodno navedenih razlika u faktorima rizika, evoluciji, uticaju specifičnih promotora i inhibitora ateroskleroze, čak se i struktura i rasprostranjenost vaskularnih kalcifikacija razlikuje kod bolesnika na hroničnom programu dijalize u poređenju sa opštom populacijom (57,62). Kod bolesnika na HD kalcifikacije u koronarnim arterijama, čak i kod bolesnika mlađih od 30 godina, zahvataju *tunica intima* i *tunica media* sloj zida krvnog suda, za razliku od opšte populacije gde je uglavnom zahvaćena isključivo *tunica intima* (57,62,66,67). Aterosklerotski plakovi u *tunica intima* sloju su skloniji rupturi i stvaranju distalnih embolusa sa posledičnim akutnim koronarnim sindromom, dok kalcifikacije u *tunica media* sloju povećavaju otpor zida krvnog suda i smanjuju perfuziju miokarda, te posledično dovode do hipertrofije leve komore i srčane slabosti (56,77,78). U poređenju sa opštom populacijom denzitet plaka u HBI je nestabilniji i nosi veći rizik od rupture, jer se odlikuje većim procentom lipidnog jezgra sa manje fibroznog volumena (62,66,67). Sastav plaka se tokom progresije HBI menja od nekrotičnog jezgra ka izrazito kalcifikovanom. Na ovaj način izmenjeni krvni sudovi bolesnika sa HBI ostvaruju veliki periferni vaskularni otpor, a srčani

mišić pokazuje znake poremećaja mikrocirkulacije. Kao posledica, smanjen je adekvatan odgovor na povišene zahteve miokarda prilikom opterećenja, što bolesnika sa HBI čini podložnijim ishemiji (77).

Zbog kompleksnosti strukture koronarnih plakova i lošijih ishoda lečenja bolesnika sa HBI u poređenju sa opštom populacijom, donošenje kliničke odluke i univerzalnih preporuka za optimalan tip revaskularizacije miokarda (medikamentozna terapija, perkutana koronarna intervencija ili bajpas) još uvek nije definisano (62,79-81). Standardne metode za procenu kardiovaskularnog rizika koje se primenjuju u opštoj populaciji, kao što je Framingam skor, ne daju tačnu procenu kod bolesnika sa HBI (79). Zapravo, tokom poslednjih godina se intenzivno istražuju testovi i laboratorijski parametri koji bi na jednostavan i dostupan način precizno procenili KV rizik u HBI. Prema preporukama KDIGO vodiča može se primeniti kompjuterizovana tomografija (CT) u cilju detekcije vaskularnih kalcifikacija kod bolesnika sa 3-5 stepenom bubrežne slabosti (nivo dokaza 2c). Kao alternativa, u slučajevima kad CT dijagnostika nije dostupna, savetovana je primena lateralne abdominalne radiografije ili ehokardiografije za procenu valvularnih kalcifikacija (80). Takođe, kod asimptomatskih bolesnika se u proceni subkliničke ateroskleroze savetuje merenje kalcifikacija koronarnih arterija (*coronary artery calcification*, CAC) ili ultrazvučno merenje intimo-medijalnog zadebljanja (IMZ) karotidnih arterija (81). Ipak, skrining kalcifikacija se ne savetuje kod svih bolesnika sa HBI, već u slučajevima izražene hiperfosfatemije koja zahteva specifičnu terapiju, kod bolesnika koji se pripremaju za transplantaciju ili ukoliko ordinirajući lekar smatra da potvrda postojanja vaskularnih kalcifikacija utiče na dalje lečenje bolesnika (80).

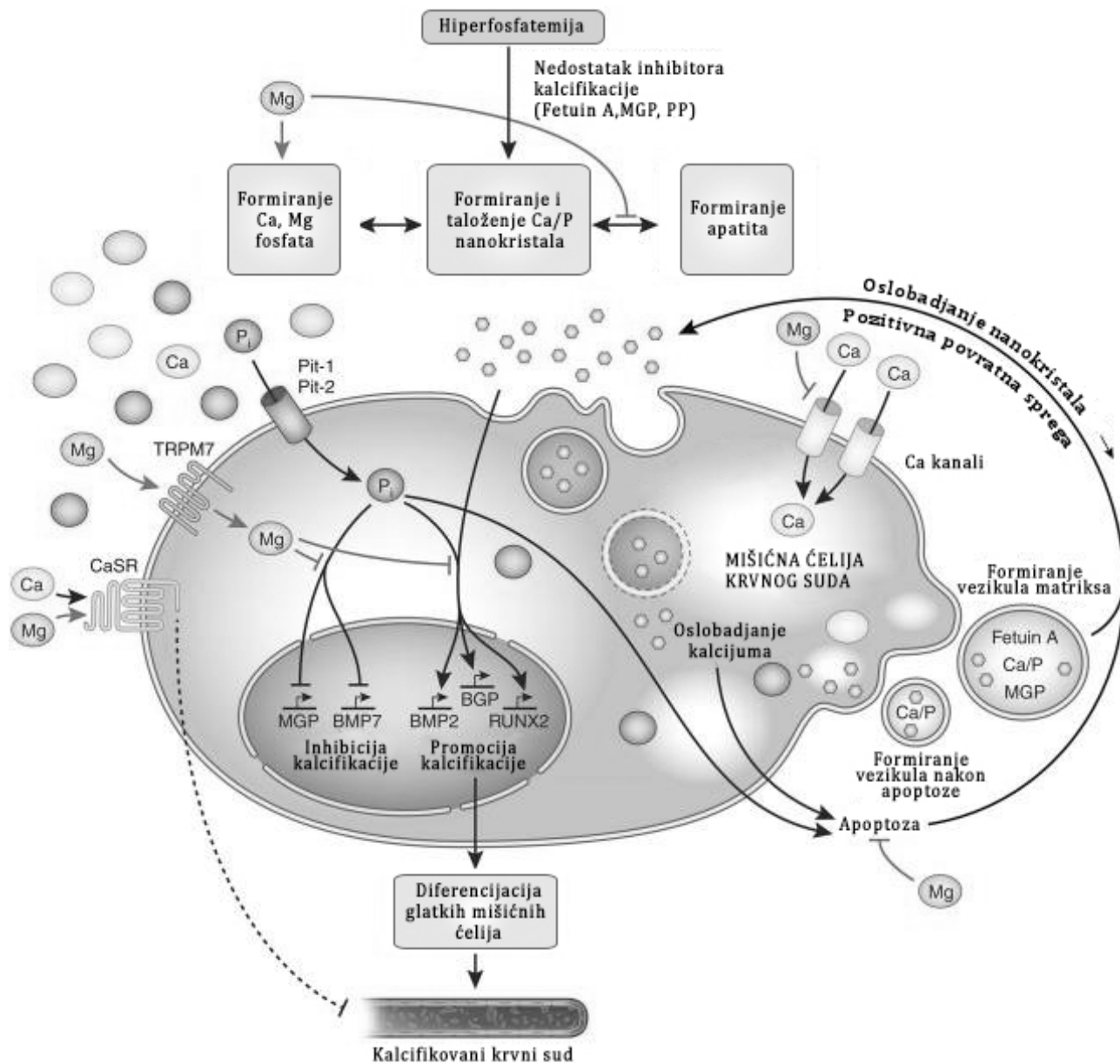
1.3. Značaj magnezijuma u evoluciji ateroskleroze kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize

Održavanje homeostaze magnezijuma kod dijaliznih bolesnika zavisi od rezidualne bubrežne funkcije, farmakološkog i dijetetskog unosa Mg i eliminacije Mg putem dijalize (68,82-84). Progresivni gubitak rezidualne bubrežne funkcije je uobičajen kod bubrežne slabosti V stepena, a sa započinjanjem hroničnog programa HD (prevashodno sa velikim stepenom ultrafiltracije tokom dijaliznog tretmana) se dodatno smanjuje ili u potpunosti gubi rezidualna diureza (85). Samim tim, uticaj rezidualne bubrežne funkcije je gotovo neznatan kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize. Takođe, unos magnezijuma putem ishrane je ograničen. Savetovan dijetetski režim bolesnika na dijalizi podrazumeva restrikciju unosa svežeg voća i povrća, kao izvora kalijuma i fosfora, čime je istovremeno smanjen i unos magnezijuma (1-3,86). Pored navedenog, način ishrane celokupne svetske populacije se značajno promenio. Tokom poslednjih decenija mahom se konzumira industrijski obrađena hrana sa malim sadržajem nutrijenata, uključujući i magnezijum. To dovodi do hipomagnezijemije kako u opštoj populaciji, tako i kod bolesnika na hroničnom programu dijalize. S druge strane, ne postoje zvanične preporuke za optimalnu dnevnu suplementaciju magnezijumom kod bolesnika na dijalizi zbog rizika od hipermagnezijemije, te se farmakološka suplementacija Mg kod ove grupe bolesnika ne savetuje (2). Na osnovu svega prethodno navedenog, najznačajniji mehanizam regulacije koncentracije magnezijuma kod dijaliznih bolesnika je baziran na primeni različitih koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti, odnosno na sposobnosti prolaska Mg kroz dijaliznu membranu i eliminacije u zavisnosti od gradijenta koncentracije između seruma i dijalizne tečnosti (2,87).

Osamdesetih godina XX veka postojale su različite koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima koje su varirale u rasponu od 0 mmol/L do 1,0 mmol/L. Ipak, rutinski su najčešće primenjivane koncentracije Mg 0,5 mmol/L (88-90). Mali broj dijaliznih centara primenjivao je koncentracije 0,75 mmol/L, dok se od 2014. godine u redovnu kliničku praksu ponovo uvode i veće koncentracije dijaliznog Mg od 1,0 mmol/L (91,92).

Pregledom aktuelne literature se uočava da je u proteklih desetak godina poraslo interesovanje za ispitivanje uticaja dijalizne koncentracije Mg na različite kliničke aspekte, pre svega na razvoj ateroskleroze i kardiovaskularnih oboljenja kod bolesnika na hroničnom programu HD (66,68,82-84,91-93). *In vitro* istraživanja, ali i istraživanja na animalnim modelima, su prikazala nekoliko različitih mehanizama kojima Mg ispoljava inhibitorno dejstvo na formiranje i precipitaciju hidroksiapatita, samim tim na proces kalcifikacije (94-97). Umesto formiranja kompleksa Ca i P u formi hidroksiapatita, pod uticajem Mg, nastaju mali kompleksi kristala (*whitlockite*) koji su rastvorljivi. Dodatno, Mg stimuliše Ca-osetljive receptore na glatkim mišićnim ćelijama krvnih sudova, te sprečava ulazak Ca u ćeliju. Na prikazani način smanjuje se stvaranje mineralnih depozita, što utiče na usporavanje kalcifikacije zida krvnog suda (94,97). Unutar ćelije, dejstvom preko TRPM7 receptora, Mg omogućava održavanje ravnoteže između promotora i inhibitora procesa kalcifikacije neutralisanjem promotora kalcifikacije koji nastaju u uslovima hiperfosfatemije. Zapravo, Mg unutar ćelije sprečava ekspresiju promotora kalcifikacije (RUNX2 i BMP2) koji nastaju u uslovima hiperfosfatemije kao posledica formiranja hidroksiapatita. Time se sprečava osteoblastna konverzija glatkih mišićnih ćelija, kao poslednji korak u procesu kalcifikacije zida krvnog suda. Takođe, kao prirodni antagonist kalcijuma, u biološkim sistemima, pokazano je da Mg menja neuromišićnu aktivnost posredovanu kalcijumom. Kontrakcija i relaksacija mišića je posredovana delovanjem i interakcijom ova dva dvovalentna katjona, odnosno magnezijum može da blokira kretanje kalcijuma kroz ćelijsku membranu glatkih mišića krvnih sudova i time utiče na smanjenje periferne vaskularne rezistencije. Preciznije rečeno, nedostatak magnezijuma pojačava dejstvo kalcijuma u organizmu, dok ga njegov višak

blokira (94). Mehanizmi inhibitornog dejstva Mg na proces kalcifikacije krvnih sudova su prikazani na slici 6.



Slika 7. Uticaj magnezijuma na inhibiciju nastanka i razvoja kalcifikacija krvnih sudova. Preuzeto od: Massy Z, Drueke T. Magnesium and outcomes in patients with chronic kidney disease: focus on vascular calcification, atherosclerosis and survival. Clin Kidney J. 2012;1:52-61.

Rezultati mnogobrojnih kliničkih ispitivanja su potvrdili da deficit serumskog Mg utiče na razvoj ateroskleroze i kardiovaskularnih oboljenja, dok suplementacija Mg može ograničiti ove procese smanjivanjem debljine *tunica intima* i *tunica media* sloja krvnog suda (98-102). Pored navedenog, dokazana je negativna korelacija između vrednosti serumskog Mg i IMZ karotidnih arterija u opštoj populaciji i kod bolesnika na hemodijalizi (20,84,102,103). Tzanakis i saradnici su dokazali da smanjenje serumskog magnezijuma za 0,5 mmol/L kod bolesnika na hroničnom programu dijalize dovodi do uvećanja IMZ za 0,35 mm (103). U prilog navedenom, istraživanje sprovedeno u sklopu Framingham studije u opštoj populaciji je potvrdilo da oralna suplementacija magnezijumom kod bolesnika koji nemaju prethodno

kardiološko oboljenje dovodi do smanjivanja kalcifikacija, odnosno kalcijumskog skora koronarnih arterija (*coronary artery calcium score, CACS*) (104).

Osim što hipomagnezijemija kod dijaliznih bolesnika predstavlja negativni prediktivni faktor za osifikaciju glatkih mišića i aterosklerozu, odnosno kardiovaskularni morbiditet, takođe je dokazana i povezanost hipomagnezijemije sa povišenim mortalitetom (83-85,87,98). Niže vrednosti magnezijuma su se pokazale nezavisnim prediktorom ukupne smrtnosti i smrtnosti od kardiovaskularnog događaja kod bolesnika na dijalizi. Razlozi su višestruki, a podrazumevaju povezanost hipomagnezijemije sa porastom vaskularnih kalcifikacija, progresijom ateroskleroze, endotelnom disfunkcijom, smanjenim imunitetom, povećanom inflamacijom, slabijim nutritivnim statusom (38,65,82-84).

Uprkos mnogobrojnim studijama koje su dokazale povezanost serumske vrednosti Mg i ateroskleroze u dijaliznoj populaciji, nema dovoljno podataka u literaturi o uticaju različitih koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti na progresiju ateroskleroze, odnosno vaskularnih kalcifikacija. Takođe, mali broj istraživanja je ispitivao uticaj dijaliznih rastvora sa koncentracijom Mg 1,0 mmol/L. Nedavno su Schmaderer i autori dokazali bolje preživljavanje među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije dijaliznog magnezijuma 0,75 mmol/L u poređenju sa 0,5 mmol/L (86). Iako je ova pilot studija imala mali broj ispitanika, ukupno 75 randomizovanih u odnosu 1:2, grupa bolesnika kod kojih je primenjivana dijalizna tečnost sa višim koncentracijama Mg nije imala prijavljen smrtni ishod tokom trogodišnjeg perioda praćenja, dok je trogodišnji rizik od smrti zbog kardiovaskularnog događaja bio 14,5% kod bolesnika kod kojih su primenjivani dijalizni rastvori sa nižim koncentracijama Mg (86). Istovremeno, Bresendorf je sproveo randomizovano istraživanje sa ciljem procene vremena konverzije primarnog u sekundarni kalciprotein, kao markera procesa kalcifikacije, između bolesnika kod kojih su se primenjivale koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti 0,5 mmol/L i 1,0 mmol/L (91). Ispitanici su tokom 28 dana dijalizirani rastvorima od 0,5 mmol/l ili 1,0 mmol/l u zavisnosti od randomizacije, a zatim su svi praćeni još 14 dana tokom kojih je obavljena dijaliza sa 0,5 mmol/l Mg u dijaliznoj tečnosti. Iako je primena različitih koncentracija Mg trajala svega 28 dana, rezultati su pokazali da je potrebno duže vreme za konverziju kalciproteina u grupi bolesnika gde je primenjivana veća koncentracija Mg.

Svi prethodno prikazani podaci ističu da bolesnici na hroničnom programu hemodijalize imaju veći kardiovaskularni rizik u poređenju sa opštom populacijom, uključujući mlade i bolesnike bez kardiovaskularnih simptoma. Osim veće stope KV morbiditeta i mortaliteta, bolesnici na hroničnom programu hemodijalize pokazuju i bržu progresiju ateroskleroze u odnosu na opštu populaciju. Razlog za to je veliki broj netradicionalnih faktora rizika povezanih sa osnovnom bolesti i samim dijaliznim lečenjem. Mnogobrojne studije su dokazale postojanje različitih promotora i inhibitora ateroskleroze, čijom modulacijom je moguće prevenirati ili usporiti razvoj ateroskleroze, a time uticati na smanjenje mortaliteta u dijaliznoj populaciji. Jedan od potencijalnih inhibitora procesa vaskularne kalcifikacije/ateroskleroze na koji se jednostavno može uticati je promena koncentracije Mg u dijaliznom rastvoru. Uprkos rezultatima dosadašnjih ispitivanja, nema dovoljno podataka o uticaju različitih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima na promenu koncentracije serumskog magnezijuma, te posledično na evoluciju ateroskleroze, razvoj kalcifikacija koronarnih krvnih sudova i kardiovaskularnih oboljenja kod dijaliznih bolesnika. Stoga su neophodna dodatna istraživanja, sa ciljem da se poboljša i omogući pravovremena i jednostavna prevencija ateroskleroze i KV oboljenja kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize.

2. Ciljevi istraživanja

Ciljevi ovog istraživanja su:

- Ispitivanje uticaja različitih koncentracija magnezijuma u dijaliznim rastvorima na intradijalizne promene koncentracije ukupnog serumskog i intraeritrocitnog magnezijuma;
- Ispitivanje uticaja različitih koncentracija magnezijuma u dijaliznim rastvorima na promenu koncentracije ukupnog serumskog magnezijuma tokom 12 meseci redovne hemodijalize;
- Ispitivanje uticaja različitih koncentracija magnezijuma u dijaliznim rastvorima na promenu ukupnog kalcijumskog skora koronarnih arterija tokom 12 meseci redovne hemodijalize;
- Ispitivanje uticaja različitih koncentracija magnezijuma u dijaliznim rastvorima na promenu intimo-medijalnog zadebljanja zajedničke karotidne arterije i zajedničke femoralne arterije tokom 12 meseci redovne hemodijalize

3. Metodologija

Istraživanje, po tipu opservacione prospektivne mešovane studije slučaja i kontrole, sprovedeno je u periodu od februara 2018. do februara 2020. godine. Ispitanike su činili bolesnici na hroničnom programu hemodijalize u matičnim dijaliznim centrima:

- Odelek hemodijalize Kliničko-bolničkog centra (KBC) Zemun
- Odeljenje nefrologije sa hemodijalizom KBC „Dr Dragiša Mišović - Dedinje”

Ispitanici su bili raspoređeni u dve grupe od po 30 bolesnika u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 ili 1,0 mmol/l) tokom svakog dijaliznog tretmana. Dijalizni rastvori sa istim koncentracijama magnezijuma primenjivani su pre istraživanja i tokom trajanja istraživanja. Mečovanje ispitanika izvršeno je po starosti, dužini trajanja hemodijalize i primenjenoj koncentraciji Mg u dijaliznoj tečnosti.

Kriterijumi za uključivanje ispitanika bili su sledeći: starost preko 18 godina, terminalna faza bubrežne slabosti, trajanje hroničnog programa hemodijalize duže od 6 meseci na istoj koncentraciji magnezijuma u dijalizatu (0,5 mmol/L odnosno 1,0 mmol/L) redovni dolazak ispitanika na program hemodijalize 3 puta nedeljno po 4 sata, potpisan informisani pristanak za učešće u istraživanju.

Kriterijumi za isključivanje bili su trudnoća, peroralna suplementacija magnezijumom, permanentna atrijalna fibrilacija, veliki kardiovaskularni događaj pre uključenja u studiju (infarkt miokarda, prethodna perkutana koronarna intervencija sa implantacijom stenta ili aortokoronarni bajpas), sistemska infekcija, prisustvo maligniteta, obavljanje dijalize van matičnog dijaliznog centra duže od 3 nedelje u slučaju odmora ili hospitalizacije.

Pre započinjanja istraživanja svi ispitanici upoznati su sa osnovnim ciljevima istraživanja i informacijom da će dobijeni podaci biti korišćeni isključivo u naučne svrhe, kao i da je garantovana anonimnost svih dobijenih podataka i identiteta ispitanika. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog Fakulteta u Beogradu 31.05.2019. godine (broj odluke 1550/V-32), Etičkog komiteta KBC Zemun 22.2.2018. godine (broj odluke 89/1) i Etičkog komiteta KBC „Dr Dragiša Mišović - Dedinje” 23.01.2019. godine (broj odluke 01-570/21). Svi bolesnici su potpisali informisani pristanak za učestvovanje u istraživanju.

Završetkom istraživanja je smatrano da su sprovedena sva planirana laboratorijska i radiološka merenja nakon 12 meseci studijskog praćenja ili da je nastupio smrtni ishod.

Osnovni sociodemografski podaci, antropometrija, faktori rizika i terapija pretraživani su iz elektronskog kartona bolesnika. Za svakog bolesnika uzeti su sledeći podaci: starost, pol, visina, telesna težina, indeks telesne mase (*body mass index*, BMI), osnovno oboljenje koje je uzročnik bubrežne slabosti, komorbiditeti, pušački status, porodična anamneza povezana sa kardiovaskularnim oboljenjem, primena lekova u redovnoj terapiji, dužina trajanja dijalize, Kt/V.

BMI (kg/m^2) je izračunat kao odnos telesne težine izražene u kilogramima (kg) i telesne visine izražene u kvadratnom metru (m^2) (106). Prema vrednostima BMI ispitanici su podeljeni u sledeće kategorije:

- BMI < 18,4 kg/m^2 – pothranjeni
- BMI u opsegu 18,5 – 24,9 kg/m^2 - normalo uhranjeni
- BMI u opsegu 25 – 29,9 kg/m^2 - prekomerna telesna masa
- BMI > 30 kg/m^2 – gojazni.

Kategorije za osnovno oboljenje - uzročnik bubrežne slabosti bile su: hipertenzija, dijabetes, opstruktivna nefropatija, vaskulitis, glomerulonefritis, policistična bolest bubrega, kalkuloza bubrega i ostali odnosno nepoznati uzroci. U okviru kategorije komorbiditeta pratilo se da li bolesnici imaju hipertenziju, dijabetes, hiperlipidemiju i hiperparatireoidizam. Hipertenzija podrazumeva da su srednje vrednosti krvnog pritiska dva ili više odgovarajućih merenja na svakom od dva ili više uzastopnih pregleda $\geq 140/90$ mm Hg ili korišćenje antihipertenzivne terapije (106). Dijabetesom je smatran metabolički poremećaj sa vrednostima HbA1c $\geq 6,5$ %, glikemije našte (nakon više od 8h gladovanja) $\geq 7,0$ mmol/l, glikemija u bilo kom slučajnom uzorku krvi (bez obzira na obrok) $\geq 11,1$ mmol/l uz prisustvo tipičnih simptoma (poliurija, polidipsija, gubitak u telesnoj težini) ili hronična upotreba antidijabetične terapije (107). Oralna antidijabetična terapija uključuje lekove iz grupe bigvanida (ne preporučuju se u HBI zbog rizika od metaboličke acidoze), preparate sulfonilureje, natrijum-glukoza transportni protein 2 (*sodium-glucose transport protein 2 inhibitors*, SGLT2) inhibitore, dipeptidil-peptidaza 4 (DPP4) inhibitore, tiazolidindione, agoniste receptora glukagonu sličnog peptida (*glucagon-like-peptid*, GLP) receptora. Uprkos velikom broju oralnih antidijabetičnih lekova, dijabetičari sa TBI uglavnom zahtevaju primenu insulina (108). Hiperlipidemija je označena kao porast vrednosti holesterola ($\geq 5,9$ mmol/L), vrednosti našte LDL (lipoproteini male gustine) $>3,36$ mmol/L, HDL (lipoproteini visoke gustine) $< 1,03$ mmol/L, triglicerida ($\geq 1,69$ mmol/L) i/ili primena antilipemika u redovnoj terapiji (109). Antilipemici su klasifikovani u pet grupa: fibrati, rezini žučnih kiselina, inhibitori hidrosimetilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) reduktaze (statini), proprotein konvertaza subtilizin/keksin tip 9 (PCSK9) inhibitori i drugi. Hiperparatireoidizam, kao čest komorbiditet u HBI, podrazumeva perzistentno visoke vrednosti PTH u serumu kao posledica poremećaja mineralnog/koštanog metabolizma (hipokalcemija, hiperfosfatemija, smanjena sekrecija vitamina D) (110). Različita internacionalna udruženja imaju značajno drugačije standarde za prihvatanje vrednosti PTH kao optimalne kod bolesnika na hroničnom programu dijalize. Preporuke japanskog udruženja dijalizne terapije podrazumevaju za optimalni opseg PTH u TBI 60 - 240 pg/ml, dok je prema KDIGO kriterijumima referentni opseg 130 - 600 pg/ml (81, 110). Usled nedostatka randomizovanih studija koje bi odredile optimalnu serumsku vrednost PTH za bolesnike na hroničnom programu hemodijalize, najnovije KDIGO preporuke savetuju postavljanje dijagnoze i odluku o terapiji hiperparatireoidizma na osnovu svakog pojedinačnog slučaja (81). Za potrebe ovog istraživanja dijagnoza hiperparatireoidizma definisana je na osnovu serumске vrednosti PTH veće od 300 pg/ml ili primene specifične terapije za hiperparatireoidizam (kalcimimetici, kalcitriol ili analozi vitamina D). Kategorije za pušački status bile su: nepušač i aktivni pušač. Beleženi su lekovi koje su ispitanici uzimali u okviru hronične terapije, uključujući inhibitore angiotenzin konvertujućeg enzima (*angiotensin converting enzyme inhibitors*, ACEi), blokatori angiotenzinskih receptora (*angiotensin receptor blockers*, ARB), statine, CaCO₃, vitamin D. Kt/V je internacionalno prihvaćeno merilo kvaliteta dijalize koje se jednostavno izračunava na osnovu Daugirdasove formule, koja za merenje zahteva vrednost ureje pre i nakon obavljenog dijaliznog tretmana, dužinu trajanja dijalize izraženu u časovima, veličinu ultrafiltracije izraženu u litrima i telesnu težinu bolesnika nakon obavljene dijalize (111, 112).

Kod bolesnika je praćena pojava sledećih kardiovaskularnih događaja: atrijalna fibrilacija, nestabilna angina pectoris, akutni infarkt miokarda, naprasna srčana smrt, smrt od bilo kog uzroka, cerebrovaskularni insult.

3.1. Laboratorijske analize

Rutinska mesečna kontrola laboratorijskih parametara kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize predstavlja deo utemeljene prakse širom sveta (113). U skladu sa najnovijim internacionalnim preporukama, dinamika hroničnog programa hemodijalize kod većine bolesnika podrazumeva tri dijalizna tretmana nedeljno u trajanju od po 4 sata (55). Preko 95% svetske dijalizne populacije obavlja hronični program hemodijalize u terminima ponedeljak-sreda-petak ili utorak-četvrtak-subota. Prvog dijaliznog dana u nedelji (ponedeljak ili utorak) kod bolesnika registruje se najveće volumno opterećenje i najviše vrednosti elektrolita i azotnih materija u serumu, a zbog najduže vremenskog razmaka između dva obavljenih dijalizna tretmana. Takođe, poslednji dijalizni tretman u sedmici (petak ili subota) povezuje se sa najbolje regulisanim laboratorijskim nalazima usled obavljenih dijaliza na drugi dan. Zbog svega navedenog, a u skladu sa KDIGO preporukama, rutinske laboratorijske analize u okviru redovne kontrole bolesnika kontrolišu se srednjeg dijaliznog dana (sreda ili četvrtak) (114).

U skladu sa navedenim preporukama, uzorci krvi za potrebe ovog istraživanja su uzimani u srednjem dijaliznom danu pre obavljene dijalize. Uzorci su kontrolisani na početku istraživanja i nakon 12 meseci praćenja. Kontrolisani su sledeći laboratorijski parametri:

- leukociti (Le, referentni opseg $4,40-11,50 \times 10^9/L$)
- eritrociti (Er, referentni opseg $4,20-5,40 \times 10^{12}/L$)
- hemoglobin (Hgb, referentni opseg 123-153 g/L)
- trombociti (Tr, referentni opseg $150-400 \times 10^9/L$)
- ukupna serumsko koncentracija Ca (referentni opseg 2,2-2,7 mmol/L)
- ukupna serumsko koncentracija P (referentni opseg 0,80-1,45 mmol/L)
- ukupna serumsko koncentracija Mg (referentni opseg 0,75-1,15 mmol/L)
- ukupna serumsko koncentracija PTH (referentni opseg 10-65 pg/mL)
- C-reaktivni protein (CRP, referentni opseg 0,0-7,0 mg/L)
- ukupni protein (referentni opseg 62,0-81,0 g/L)
- albumin (referentni opseg 35,0-55,0 g/L)
- trigliceridi (referentni opseg $<1,95$ mmol/L)
- holesterol (referentni opseg 3,4-5,8 mmol/L)
- CaxP proizvod je izračunat na osnovu serumskih vrednosti Ca i P.

Parametri krvne slike određivani su primenom VCS (*Volume, Conductivity, Scatter*) tehnologije na aparatu Unicel DxH 600 (Beckman coulter). Ukupna serumsko koncentracija Ca određivana je fotometrijski sa Ca-arsenzom na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Ukupna serumsko koncentracija P određivana je metodom fotometrije sa molibdatom na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Ukupna serumsko koncentracija Mg određivana je fotometrijski *xylydylol blue* metodom na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Ukupna serumsko koncentracija PTH određivana je metodom hemiluminescencije na aparatu DXI 600 (Beckman coulter). Vrednost CRP-a određivana je metodom imunoturbidimetrije na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Ukupni proteini određivani su fotometrijski sa jonima bakra na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Albumini u serumu određivani su fotometrijski sa krezol zelenim na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Vrednost triglicerida je određivana obojenom enzimskom reakcijom na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter). Vrednost holesterola je određivana enzimskom obojenom reakcijom sa holesterol-esterazom na aparatu DxC 700 au (Beckman coulter).

Na početku istraživanja, samo kod bolesnika koji su na hroničnom programu hemodijalize u KBC Zemun – ukupno 43 bolesnika, u srednjem dijaliznom danu određena je

ukupna serumska i intraeritrocitna koncentracija magnezijuma pre i posle dijalize, a radi praćenja intradijaliznog kretanja magnezijuma. Određivanje serumske koncentracije Mg obavljeno je fotometrijski (Beckman coulter) u KBC Zemun. Određivanje intraeritrocitne koncentracije Mg obavljeno je u Istraživačkoj stanici Petnica, u saradnji sa docentom Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Uzorci krvi za određivanje intraeritrocitne koncentracije magnezijuma uzimani su u duplikatu, po 10 ml u epruvetama sa etilen-diamino-tetrasirćetnom kiselinom (*ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA). Od trenutka uzimanja uzoraka do dalje analize je prošlo maksimum 3 dana, tokom kojih su uzorci čuvani u frižideru. Uzorci su centrifugirani 5 minuta na 2000 obrtaja/min, nakon čega je odliven supernatant. Supernatant je ispran sa 5 ml fiziološkog rastvora (Sol 0,9 % NaCl), nakon čega je ponovo centrifugiran 5 minuta na 2000 obrtaja/min. Ova procedura se ponavlja dva puta. Nakon ispiranja i centrifugiranja, izdvojeni su izolovani eritrociti. Liziranje eritrocita vrši se destilovanom vodom, nakon čega se membrane eritrocita uklanjaju centrifugiranjem uzoraka na 2000 obrtaja/min tokom 20 minuta. Dilucija dobijenih uzoraka je vršena lantan-oksidiom. Koncentracija magnezijuma iz ćelijskog lizata određena je atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom (AAS) (Thermo Fischer), izražena u mmol/L (115). Referentni opseg za intraeritrocitni magnezijum je 1,65–2,65 mmol/L (5).



Slika 8. Atomski apsorpcioni spektrofotometar

Ispitanicima su nakon 12 meseci studijskog praćenja izmereni parametri zapaljenja: interleukin-6 (IL-6), faktor nekroze tumora alfa (*tumor necrosis factor alpha*, TNF α), pentraxin 3 (PTX3). Uzorci krvi, po 10 ml u dve epruvete sa separacionim gelom, prikupljeni su u srednjem dijaliznom danu neposredno pre obavljene dijalize. Nakon 20 min koagulacije, uzorci su centrifugirani po 10 min na 1000 obrtaja za IL-6 i 10 min na 2000 obrtaja za TNF α i PTX3. Nakon centrifugiranja, serum je izdvojen u ependorfe, te zamrznut na -80°C do prikupljanja svih uzoraka. Prikupljeni uzorci obrađeni su testom ELISA (*enzyme-linked*

immunosorbent assay) na Institutu za kliničku i medicinsku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

3.2. Pregled srca multislajsnom kompjuterizovanom tomografijom

Svim bolesnicima urađen je pregled srca multislajsnom kompjuterizovanom tomografijom (*multislice computed tomography*, MSCT) na 128-slajsnom skeneru sa 64 reda detektora u *dual-slice* tehnologiji, debljine preseka 0,5 mm (Aquilion CXL, Toshiba Medical Systems, Japan). Prema prethodno definisanom protokolu, pregledom je izračunat CACS i urađena CT koronarografija (*coronary computed tomography angiogram*, CCTA) (116). Kompletan pregled (CACS i CCTA) urađen je na početku studije, a kontrolni CACS određivan je nakon 12 meseci tokom kojih je nastavljena redovna hemodijaliza uz primenu iste koncentracije dijaliznog magnezijuma (0,5 ili 1,0 mmol/L). Ispitanicima koji su tokom perioda praćenja razvili infarkt miokarda nije ponavljan kontrolni CACS. Sve preglede analizirao je isti lekar, kardiolog.

Priprema bolesnika za MSCT pregled srca

Elektrokardiogram (EKG) urađen je svim ispitanicima na dan MSCT pregleda srca, neposredno pre samog pregleda. Svi EKG zapisi tumačeni su isključivo od iste osobe, glavnog istraživača. Neophodni uslov za precizno izvođenja MSCT pregleda srca je sinusni ritam. Ukoliko bi srčana frekvencija bila veća od 50 otkucaja/min, jedan sat pre MSCT pregleda ordinirana je terapija beta blokatorom, metoprololom u dozi određenoj prema BMI i srčanoj frekvenci (tabela 4). Frekvencija manja od 60 otkucaja/minuti smatra se optimalnom za MSCT pregled srca kako bi se obezbedio dobar kvalitet snimka radi preciznog postavljanja dijagnoze (117).

Tabela 4. Preporuke za doziranje metoprolola prema vrednosti srčane frekvence i indeksa telesne težine

BMI (kg/m ²)	Srčana frekvencija (otkucaja/minuti)		
	50-60	60-70	> 70
< 25	25 mg	50 mg	100 mg
25-30	50 mg	75 mg	100 mg
> 30	50 mg	100 mg	100 mg

Ukoliko prvom dozom nije postignuta zadovoljavajuća srčana frekvencija (<60 otkucaja/min), ordinira se intravenski metoprolol do maksimalne doze od 15 mg (tri puta po 5 mg sa razmakom od 3-5 minuta između doza). U slučaju da je kontraindikovana primena beta blokatora, primenjuje se ivabradin 15 mg ili verapamil 240 mg do uspostavljanja optimalne srčane frekvence (<60 otkucaja/min) radi postizanja adekvatnih uslova za MSCT pregled (116, 117).

Neposredno pre MSCT pregleda srca ordinira se kratkododelujući nitroglicerol u dozi 0,8 µg kako bi se smanjio vazospazam i vazomotorni tonus koronarnih arterija (118). Kontraindikacije za primenu nitroglicerola su vrednost sistolnog pritiska <110 mm Hg, primena inhibitora fosfodiesteraze, teška opstruktivna kardiomiopatija, intolerancija na nitroglicerol (116, 117).

Tokom MSCT pregleda, ispitanik leži na leđima sa rukama iznad glave na pokretnom stolu, koji se kreće u kranio-kaudalnom smeru kroz nosač rotirajuće rentgenske cevi. Tokom pregleda registruje se EKG, odnosno, kompjuterski se određuje trajanje R-R intervala. Time je omogućeno da se koronarne arterije snime u svim fazama R-R intervala, od kojih su najbitnije

središnje faze dijastole i sistole. Neophodno je tokom snimanja obustaviti disanje kako bi se redukovali artefakti (116). Opisana metodologija rutinski se primenjuje u KBC Zemun u cilju dijagnostike koronarne bolesti.

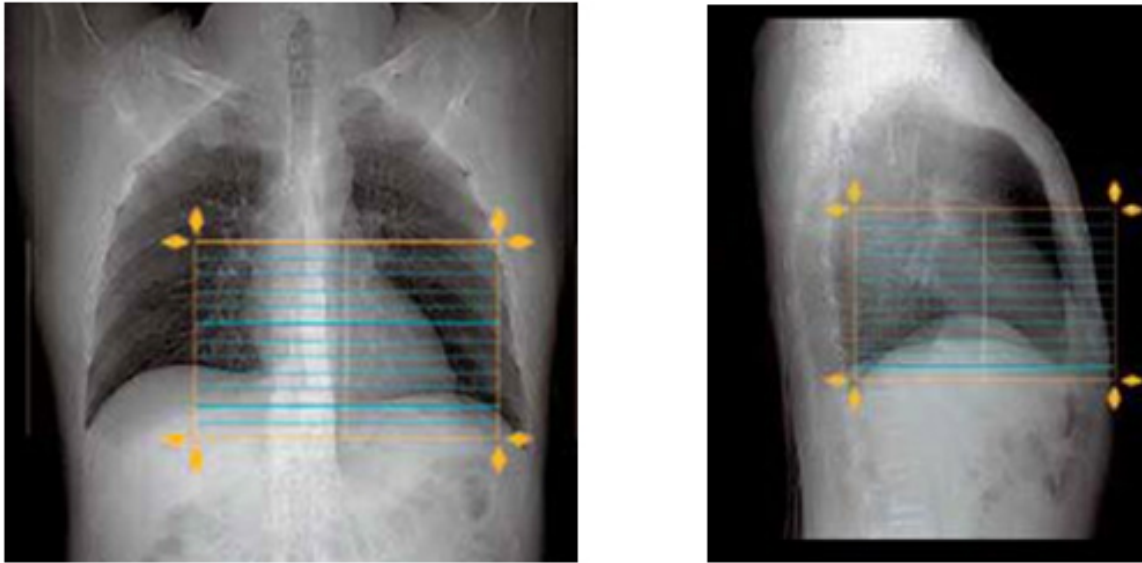


Slika 9. Priprema bolesnika za pregled srca multislajsnom kompjuterizovanom tomografijom u Kliničko-bolničkom centru Zemun

MSCT pregled i rekonstrukcija snimaka

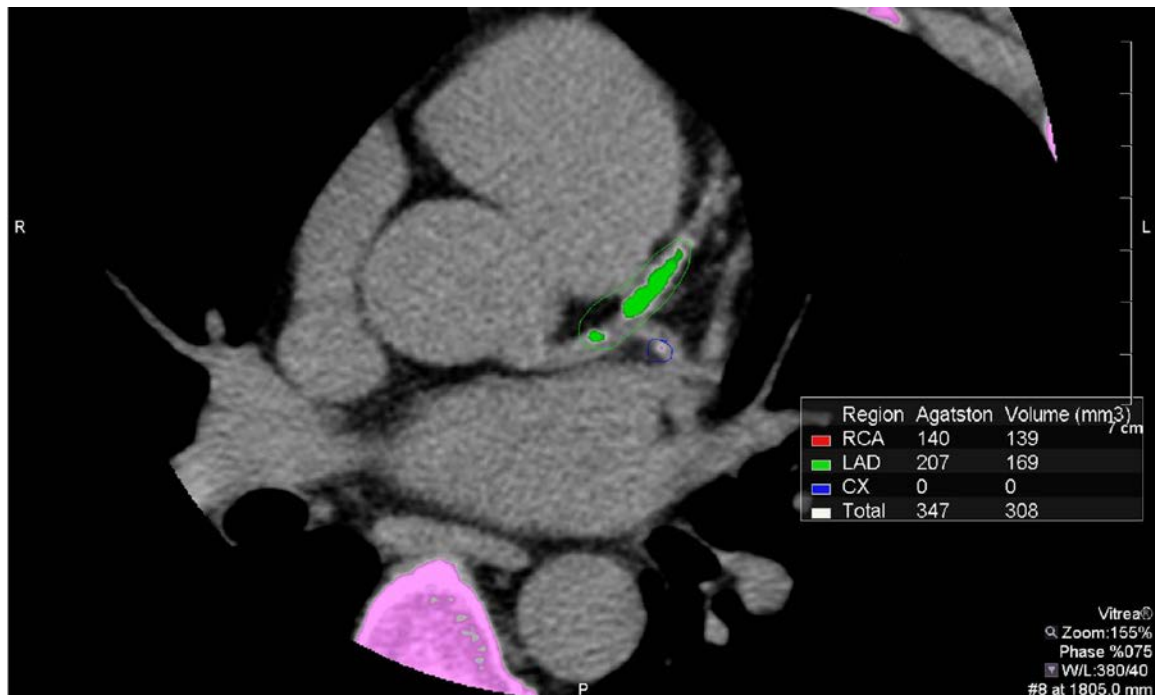
a) Određivanje kalcijumskog skora koronarnih arterija

Pomoću anteroposteriornog i lateralnog skenograma (120 kV, 50 mA) obeležavaju se granice srca. Snimci za određivanje kalcijumskog skora koronarnih arterija dobijaju se pomoću izvora rentgenskog zračenja podešenog prema sledećim parametrima: potencijal od 120 kV, efektivna snaga u opsegu 40-500 mA, kolimacija 3,0 mm, vreme rotacije 0,23 sekunde. Iz dobijenih snimaka izračunava se ukupni i CACS za svaku pojedinačnu koronarnu arteriju: glavno stablo leve koronarne arterije (*left main, LM*), prednja descedentna koronarna arterija (*left anterior descending artery, LAD*), desna koronarna arterija (*right coronary artery, RCA*), cirkumfleksna koronarna arterija (*circumflex coronary artery, Cx*).



Slika 10. Anteroposteriorni i lateralni skenogram

Vrednost CACS izražava se u Agatstonovim jedinicama i zapremini (mm^3), koji se izračunavaju pomoću automatizovanog softvera (Vital Vitrea Advanced 6.6, Vital Images, Minnetonka, Minnesota, US).



Slika 11. Određivanje kalcijum skora koronarnih arterija – aksijalni presek srca

b) Koronarna angiografija

Pomoću ranije napravljenih anteroposteriornog i lateralnog skenograma (120 kV, 50 mA), obeležavaju se granice srca i aksijalni presek u najvećem dijametri srca koji služi za rekonstrukciju čitavog srca i descedentne aorte. Snimci se dobijaju pomoću izvora zračenja podešenog prema sledećim parametrima: potencijal od 120 kV, efektivna snaga u opsegu 40-500 mA, kolimacija 0,5 mm, vreme rotacije 0,35 sekundi. Bolus kontrastnog sredstva (Ultravist 370 - iopromid, koncentracije 370 mg/ml, Bayer Health Care, Germany) primenjivao se intravenski preko 18G ili 20G kanile plasirane u regiji desne podlaktice ili šake, praćen bolusom fiziološkog rastvora (14). Zapremina primenjenog kontrastnog sredstva izračunava se pojedinačno za svakog bolesnika prema formuli (118):

$$\text{Ukupna zapremina [ml]} = (\text{Vreme skeniranja [sec]} + 10 [\text{konstanta}]) \times \text{Protok [ml/sec]}$$

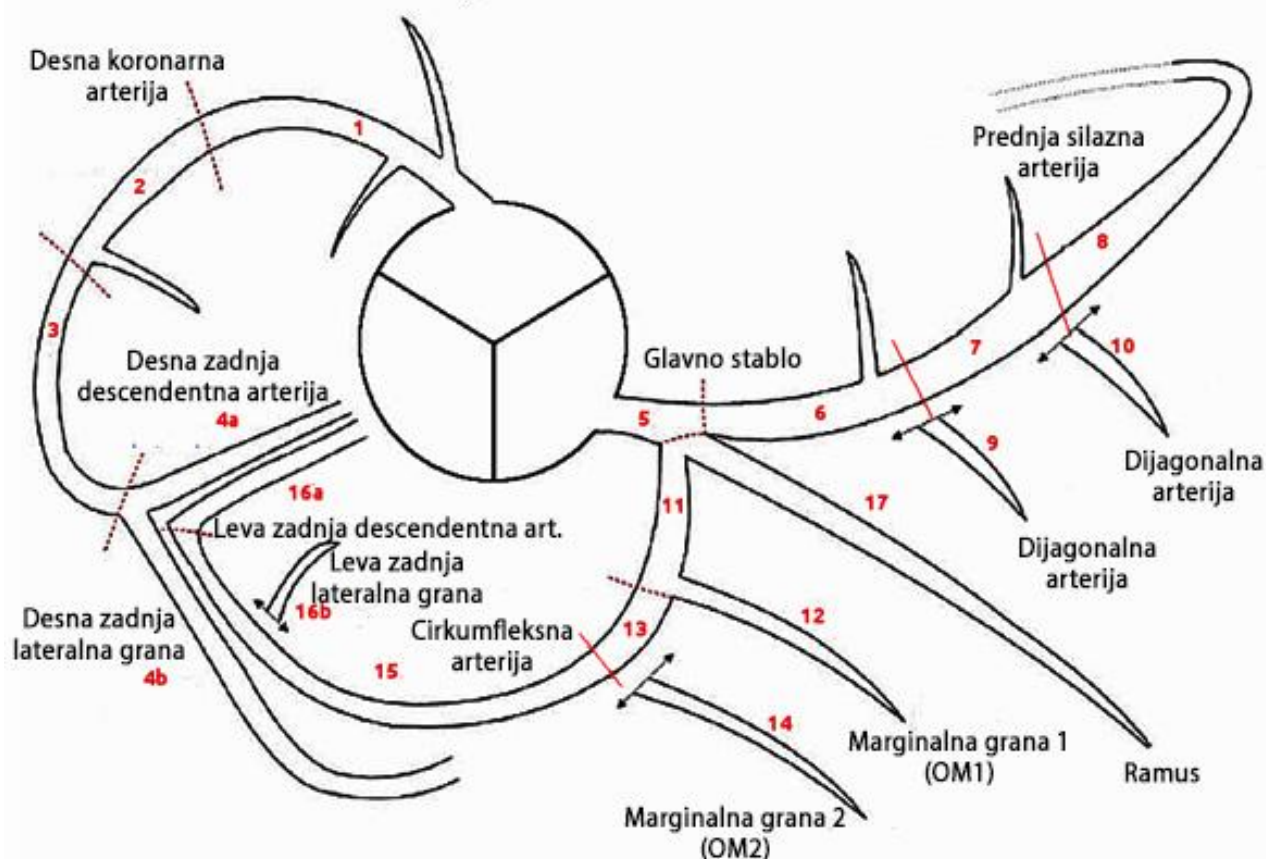
Skeniranje počinje automatski 2 sekunde nakon dostizanja opacifikacije u descedentnoj aorti od 180 Haunsfeldovih jedinica (SUREStart, Toshiba Medical Systems). U zavisnosti od srčane frekvence tokom pregleda, aksijalni preseki su rekonstruisani sinhronizovano sa EKG-om koristeći podatke tokom najmanje jednog srčanog ciklusa. Slike su rekonstruisane na osnovu vrednosti srčane frekvence:

- 1) prospektivni nisko-dozni protokol za $fr \leq 60/\text{min}$, sa obuhvatanjem 65-85% srčanog ciklusa;
- 2) retrospektivni modulirani protokol za $fr 60-70/\text{min}$, sa obuhvatanjem 0-90% srčanog ciklusa koristeći male doze zračenja u period 0-50% ciklusa
- 3) retrospektivni protokol za $fr 70-80/\text{min}$, sa obuhvatanjem 0-90% srčanog ciklusa bez promene doze zračenja.

Prosečna vrednost ukupne doze zračenja, izračunate pomoću tzv. proizvoda doze i dužine zračenja (*dose length product*, DLP) za sve pacijente je bila $622,69 \pm 288,99 \text{ mGy} \cdot \text{cm}$. Kako bi se postigao optimalni kvalitet snimaka, u njihovoj rekonstrukciji korišćen je standardni adaptivni ponovni trodimenzionalni protokol sa smanjivanjem doze (*Adaptive Iterative Dose Reduction Three-Dimensional* protoc, AIDR3D, SUREExposure, Toshiba Medical System).

Detaljno su analizirani svi segmenti koronarnih arterija i procenjavana je značajnost uočenih aterosklerotskih lezija i plakova. Stenoza se smatrala značajnom ukoliko zauzima više od 50% lumena krvnog suda (118, 119). Plakovi su definisani kao fibrolipidni, kalcifikovani i mešoviti, što se procenjuje na osnovu atenuacije X zraka. Fibrolipidni plakovi sastoje se od lipidnog nekrotičnog jezgra okruženog kolagenom. Kalcifikovani plakovi imaju nekrotično jezgro prožeto kalcifikatima, dok su mešoviti izgrađeni od kolagena i kalcifikovanih zona (120). Segmenti koronarnih arterija definisani su prema prikazanoj shemi:

Anatomija koronarnih krvnih sudova



Slika 12. Prikaz koronarnih arterija po segmentima. Preuzeto od: Raff GL, Abidov A, Achenbach S, Berman DS, Boxt LM, et al; Society of Cardiovascular Computed Tomography. SCCT guidelines for the interpretation and reporting of coronary computed tomographic angiography. *J Cardiovasc Comput Tomogr.* 2009;3(2):122-36.

3.3. Kolor dopler sonografija

Kod svih ispitanika uključenih u istraživanje rađena je kolor dopler sonografija (*color doppler sonography*, CDS) u B-modu, na aparatu Toshiba Aplio 300. Mereno je IMZ nad zajedničkom karotidnom arterijom i zajedničkom femoralnom arterijom obostrano. IMZ predstavlja debljinu dva unutrašnja sloja arterijskog zida (*tunica intima* i *tunica media*), te služi za određivanje stepena ateroskleroze (81).

Pregled se izvodi linearnom sondom, dok je ispitanik u ležećem položaju. Za merenje IMZ karotidnih arterija, glava je blago zabačena, a vrat opušten kako bi se izbegla kontrakcija sternokleidomastoidnog mišića. Pregled obavlja radiolog koji pristupa sa lateralne strane ispitaniku, iz istog položaja meri IMZ obe karotidne arterije (121). Za merenje IMZ femoralnih arterija obostrano takođe se pristupa ispitaniku dok je u ležećem položaju, prelazeći sondom preko arterije u preponskoj regiji prvo transversalno, zatim rotirajući sondu za 90 stepeni za longitudinalni pristup (122).

IMZ se meri u longitudinalnom preseku ispitivane arterije 10 mm proksimalno od bifurkacije na tri mesta na posteriornom zidu. Meri se pomoću kaliper funkcije na ultrazvučnom aparatu, a kao vrednost IMZ uzima se srednja vrednost. Vrednosti IMZ manje od 0,9 mm smatraju se referentnim vrednostima, od 0,9 mm do 2,0 mm povećanjem IMZ, a preko 2,0 mm aterosklerotskim plakom (123, 124).

Prvo merenje obavljeno je na početku istraživanja, istog dana kad i MSCT pregled srca. Kontrolni pregled urađen je nakon 12 meseci, istog dana kad i kontrolno merenje CACS.

3.4. Statistička analiza

U ovoj studiji korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode. Od deskriptivnih metoda korišćeni su apsolutni i relativni brojevi, mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana) i mere disperzije (standardna devijacija, standardna greška, percentili). Od analitičkih statističkih metoda korišćeni su testovi razlike i analiza povezanosti. Od testova razlike upotrebljeni su parametarski (t test, ANOVA ponovljenih merenja) i neparametarski test (Hi-kvadrat test, Mann-Whitney U test, Wilcoxon Signed Ranks test, McNemar test). Za ispitivanje povezanosti i modelovanje odnosa zavisne sa jednom ili više nezavisnih korišćene su linearna regresiona analiza (za numeričke zavisne varijable) i logistička regresiona analiza (za dihotomne zavisne varijable). Za ispitivanje povezanosti među varijablama korišćen je Pirsonov test korelacije za parametarske podatke ili Spirmanov test korelacije za neparametarske. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Grafički prikaz rezultata napravljen je u programu GraphPad Prism (verzija 8.4.2). Izabrani nivo značajnosti, odnosno verovatnoća greške prvog tipa, iznosi 0.05. Svi podaci obrađeni su u SPSS 20.0 softverskom paketu (IBM korporacija).

Poverljivost podataka

Individualni podaci o ispitanicima čuvaju se na sigurnom i skrovitom mestu, a ime ispitanika na njima se ne navodi. Na svim obrascima navedene su samo šifre ispitanika. Poseban obrazac za dešifrovanje takođe je zasebno čuvan na skrovitom i sigurnom mestu. Saglasnost o učestvovanju u istraživanju je odvojena od ostale dokumentacije i takođe čuvana pod istovetnim uslovima.

4. Rezultati

4.1. Kliničke karakteristike bolesnika

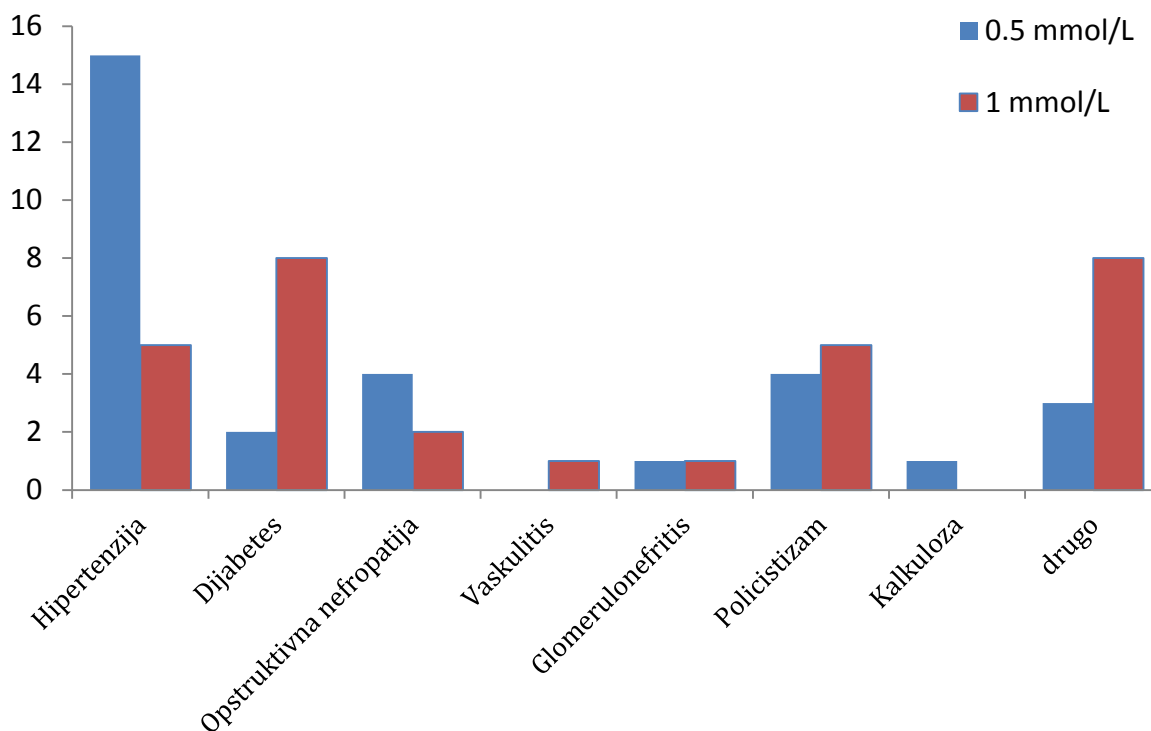
Demografski, antropološki i klinički podaci ispitanika u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti su prikazani u tabeli 5. U grupi bolesnika u kojoj je primenjivana niža koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti je bila podjednaka zastupljenost muškaraca i žena, dok je u grupi sa višim koncentracijama Mg veći broj muškaraca. Ipak, navedena razlika u zastupljenosti polova nije dostigla statističku značajnost. Prosečna starost bolesnika se nije značajno razlikovala među grupama. Iako je prosečna dužina trajanja HD bila manja kod bolesnika koji su obavljali dijalizu sa nižim koncentracijama Mg u odnosu na bolesnike sa višim koncentracijama, razlika nije dostigla statističku značajnost ($p=0,120$). Učestalost hiperparatiroidizma je bila statistički značajno veća među bolesnicima koji su primenjivali 0,5 mmol/l Mg u dijaliznoj tečnosti, dok se prema ostalim komorbiditetima grupe nisu značajno razlikovale (tabela 5).

Tabela 5. Demografske karakteristike ispitivane populacije u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs. 1,0 mmol/L)

Demografske karakteristike	Mg 0.5 mmol/L ($\bar{x} \pm SD$)	Mg 1.0 mmol/L ($\bar{x} \pm SD$)	p-vrednost	
Pol (muški/ženski)	15/15	22/8	0.063	
Starost (godine)	61.20±10.25	59.53±12.42	0.573	
Trajanje hemodijalize (meseci)	23.00±14.66	28.97±14.63	0.120	
Kt/V	1.42±0.24	1.37±0.18	0.383	
BMI (kg/m ²)	23.91±3.65	25.05±2.93	0.185	
Pozitivna porodična anamneza za kardiovaskularne bolesti (No, %)	9 (30.0%)	7 (23.3%)	0.559	
Pušenje (No, %)	8 (26.7%)	8 (26.7%)	0.214	
Sistolni pritisak (mmHg)	136±15	138±16	0.626	
Dijastolni pritisak (mmHg)	78±9	75±7	0.288	
Komorbiditeti	Hipertenzija	27 (90.0%)	23 (76.7%)	0.166
	Dijabetes	4 (13.3%)	8 (26.7%)	0.197
	Hiperlipidemija	8 (26.7%)	13 (43.3%)	0.176
	Hiperparatiroidizam	27 (90.0%)	14 (46.7%)	<0.001
Primenjena terapija	ACEi	18 (60.0%)	18 (60.0%)	1.000
	ARB	4 (13.3%)	4 (13.3%)	1.000
	Statini	4 (13.3%)	2 (6.7%)	0.389
	Vitamin D	11 (36.7%)	6 (20.0%)	0.152
	CaCO ₃	28 (93.3%)	29 (96.7%)	0.554

Skraćenice: ACEi – inhibitori angiotenzin-konvertujućeg enzima; ARB – blokatori angiotenzinskih receptora

U grupi u kojoj je primenjena koncentracija 0,5 mmol/l Mg hipertenzija je bila najčešći uzrok HBI, dok je u grupi u kojoj je primenjena koncentracija 1,0 mmol/l Mg podjednaka zastupljenost dijabetesa i drugih/nepoznatih uzroka HBI (grafikon 1). Ipak, nije bilo značajne razlike u distribuciji osnovne bolesti među ispitivanim grupama bolesnika ($\chi^2=13,651$, $p=0,058$).



Grafikon 1. Distribucija osnovne bolesti uzročnika bubrežne slabosti u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs. 1,0 mmol/L)

4.2. Rezultati laboratorijskih analiza

Poređenjem laboratorijskih nalaza na početku ispitivanja, registrovana je statistički značajna razlika među grupama u koncentraciji serumskog Mg, PTH i holesterola (tabela 6). Vrednost serumskog Mg je bila u referentnom opsegu ukoliko je primenjivana niža koncentracija Mg, dok je bila značajno iznad referentnog opsega ukoliko je primenjivana veća koncentracija (tabela 6). Takođe, vrednosti PTH su bile statistički značajno više kod bolesnika dijaliziranih sa 0,5 mmol/L Mg u poređenju sa drugom grupom ($Z=3,430$, $p=0,011$). Vrednosti holesterola su bile značajno niže u grupi bolesnika u kojoj je primenjena koncentracija 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti ($t=2,188$; $p=0,033$). Ostali laboratorijski parametri mereni na početku istraživanja se nisu značajno razlikovali između grupa (tabela 6).

Tabela 6. Laboratorijski nalazi na početku ispitivanja u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs. 1,0 mmol/L)

Laboratorijski parametri	Mg 0.5 mmol/L ($\bar{x} \pm SD$)	Mg 1.0 mmol/L ($\bar{x} \pm SD$)	p-vrednost
Leukociti ($10^9/L$)	6.74±2.07	6.46±1.64	0.558
Eritrociti ($10^{12}/L$)	3.26±0.33	3.35±0.38	0.320
Hemoglobin (g/L)	105±10	106±11	0.682
Trombociti ($10^9/L$)	212±64	223±57	0.482
Serumski Mg (mmol/L)	1.13±0.15	1.39±0.22	0.000
Serumski Ca (mmol/L)	2.29±0.14	2.23±0.16	0.120
Serumski P (mmol/L)	1.69±0.56	1.93±0.81	0.181
CaxP	3.89±1.34	4.33±1.89	0.308
PTH (pg/mL)	285.26±160.22	173.95±169.61	0.011
Ukupni proteini (g/L)	65±5	63±4	0.118
Albumin (g/L)	38±3	37±3	0.056
Trigliceridi (mmol/L)	1.77±0.79	2.1±1.38	0.260
Holesterol (mmol/L)	4.87±0.82	4.32±1.1	0.033
CRP (mmol/L)	3.95±6.01	4.94±7.28	0.568

Skraćenice: Mg – magnezijum, P – fosfor, PTH – paratiroidni hormon, Ca – kalcijum, CaxP – proizvod kalcijuma i fosfora, CRP – C reaktivni protein

Nakon 12 meseci studijskog praćenja, vrednost serumskog Mg ($t=6,449$; $p<0,001$) je bila statistički značajno manja u grupi sa primenjenom koncentracijom 0,5 mmol/L Mg u poređenju sa 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti (tabela 7). Vrednost PTH ($Z=3,341$; $p=0,001$) je bila statistički značajno veća u grupi sa primenjenom koncentracijom 0,5 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti. Ostali laboratorijski parametri, uključujući holesterol, se nisu značajno razlikovali između grupa (tabela 7).

Tabela 7. Laboratorijski nalazi nakon 12 meseci redovne hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs. 1,0 mmol/L)

Laboratorijski parametri	Mg 0.5 mmol/L ($\bar{x} \pm SD$)	Mg 1.0 mmol/L ($\bar{x} \pm SD$)	p-vrednost
Leukociti ($10^9/L$)	6.44±1.78	6.89±1.99	0.360
Eritrociti ($10^{12}/L$)	3.40±0.47	3.43±0.51	0.811
Hemoglobin (g/L)	112±11	108±14	0.222
Trombociti ($10^9/L$)	210±63	201±48	0.538
Serumski Mg (mmol/L)	0.99±0.14	1.29±0.21	<0.001
Serumski Ca (mmol/L)	2.28±0.17	2.21±0.22	0.157
Serumski P (mmol/L)	1.67±0.42	1.84±0.66	0.297
CaxP	3.84±1.04	4.07±1.38	0.467
PTH (pg/mL)	311.12±201.26	172.67±180.32	0.001*
Ukupni proteini (g/L)	66.73±5.19	66.07±5.43	0.629*
Albumin (g/L)	40.57±2.87	38.90±5.72	0.298
Trigliceridi (mmol/L)	1.54±0.87	1.87±1.11	0.308
Holesterol (mmol/L)	4.52±0.84	4.26±1.14	0.317
CRP (mmol/L)	6.84±7.14	7.89±7.14	0.496*
IL-6	7.75±5.79	10.97±11.09	0.657**
TNF α	10.80±2.22	37.37±127.90	0.295**
PTX3	106.39±54.22	139.21±22.68	0.355**

*Wilcoxon test; ** Mann-Whitney test

Skraćenice: IL-6 – interleukin-6, Mg – magnezijum, P – fosfor, PTX3 – pentraksin 3, TNF α – faktor nekroze tumora alfa, Ca – kalcijum, CRP – C reaktivni protein

Nakon 12 meseci redovne dijalize, u grupi bolesnika kod kojih je primenjivana koncentracija 0,5 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti primećen je značajan pad vrednosti serumskog Mg ($t=5,738$; $p<0,001$), porast vrednosti albumina ($t=2,608$; $p<0,001$), porast vrednosti CRP-a ($Z=3,261$; $p<0,001$) i pad vrednosti holesterola ($t=2,693$; $p<0,001$) u odnosu na početak istraživanja. Vrednost Ca ($p=0,888$) i P ($p=0,813$) nije značajno promenjena tokom 12 meseci. Registrovan je trend porasta PTH, ali nije postignuta statistička značajnost ($p=0,721$).

Nakon 12 meseci redovne dijalize, među bolesnicima kod kojih je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti registrovano je smanjenje serumskog Mg ($t=3,558$; $p<0,001$), porast vrednosti proteina ($Z=2,571$; $p=0,010$), albumina ($t=2,664$; $p=0,013$) i CRP-a ($Z=2,571$; $p=0,027$) u odnosu na početak istraživanja. Nije registrovana značajna promena vrednosti Ca ($p=0,651$), P ($p=0,310$) ni PTH ($p=0,943$) tokom 12 meseci praćenja.

U obe grupe bolesnika je registrovan pad vrednosti serumskog Mg nakon 12 meseci studijskog praćenja. Ipak, ukoliko je primenjena koncentracija 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti, vrednost serumskog Mg se održava iznad referentnog opsega (tabela 7).

Kod 43 bolesnika koji su na hroničnom programu HD u KBC Zemun je na početku istraživanja izmerena vrednost serumskog i intraeritrocitnog Mg pre i nakon jednog sprovedenog dijaliznog tretmana. Demografske karakteristike se nisu značajno razlikovale u odnosu na prethodno prikazane podatke koji se odnose na celokupnu studijsku populaciju. Grupu u kojoj je primenjivana koncentracija 0,5 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti je činilo 23 bolesnika, dok je grupu sa 1,0 mmol/L Mg činilo 20 bolesnika. Ukupna serumska koncentracija Mg pre dijalize je iznosila $1,14 \pm 0,19$ mmol/L u grupi sa nižim koncentracijama Mg u dijaliznoj tečnosti, dok je $1,47 \pm 0,25$ mmol/L kod bolesnika sa većim koncentracijama Mg u dijaliznoj tečnosti. Koncentracija serumskog Mg nakon dijalize je bila značajno niža u grupi bolesnika kod kojih je primenjena koncentracija 0,5 mmol/L Mg, dok nije uočena statistički značajna promena vrednosti serumskog Mg kod bolesnika kod kojih je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L Mg (Tabela 8). Takođe, vrednosti intraeritrocitnog Mg nakon obavljenog dijaliznog tretmana su smanjene kod bolesnika dijaliziranih rastvorima koncentracije 0,5 mmol/L Mg, dok su porasle među bolesnicima koji su tokom dijalize primenjivali rastvore koncentracije 1,0 mmol/L Mg. Navedene intradijalizne promene intraeritrocitne koncentracije Mg nisu dostigle statističku značajnost (Tabela 8).

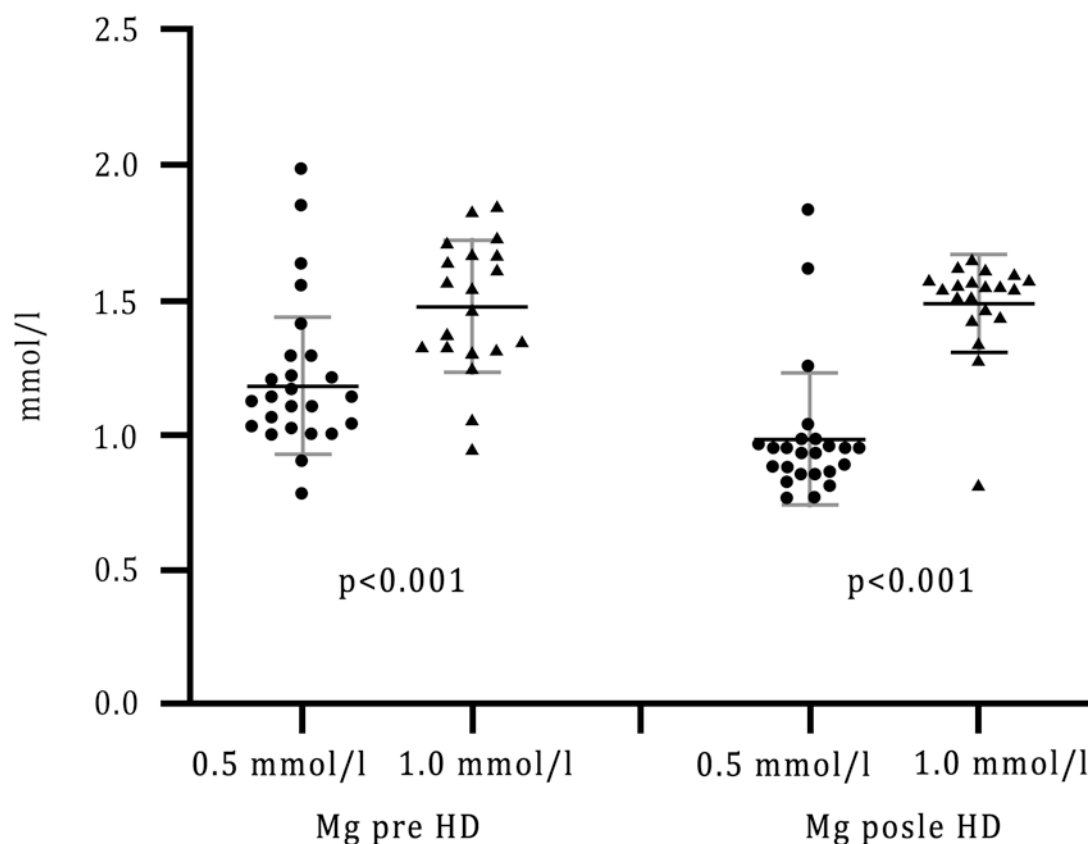
Tabela 8. Ukupna serumska i intraeritrocitna koncentracija Mg pre i nakon pojedinačnog hemodijaliznog tretmana u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

Dijalizni rastvor	Laboratorijski nalaz	Pre dijalize ($\bar{x} \pm SD$)	Posle dijalize ($\bar{x} \pm SD$)	p-vrednost
Mg 0.5 mmol/L	Serumski Mg	1.14 ± 0.19	0.95 ± 0.16	<0.001
	Intraeritrocitni Mg	1.98 ± 0.34	1.97 ± 0.28	0.939
Mg 1.0 mmol/L	Serumski Mg	1.47 ± 0.25	1.49 ± 0.18	0.926
	Intraeritrocitni Mg	2.09 ± 0.37	2.19 ± 0.48	0.067

Skraćenice: Mg - magnezijum

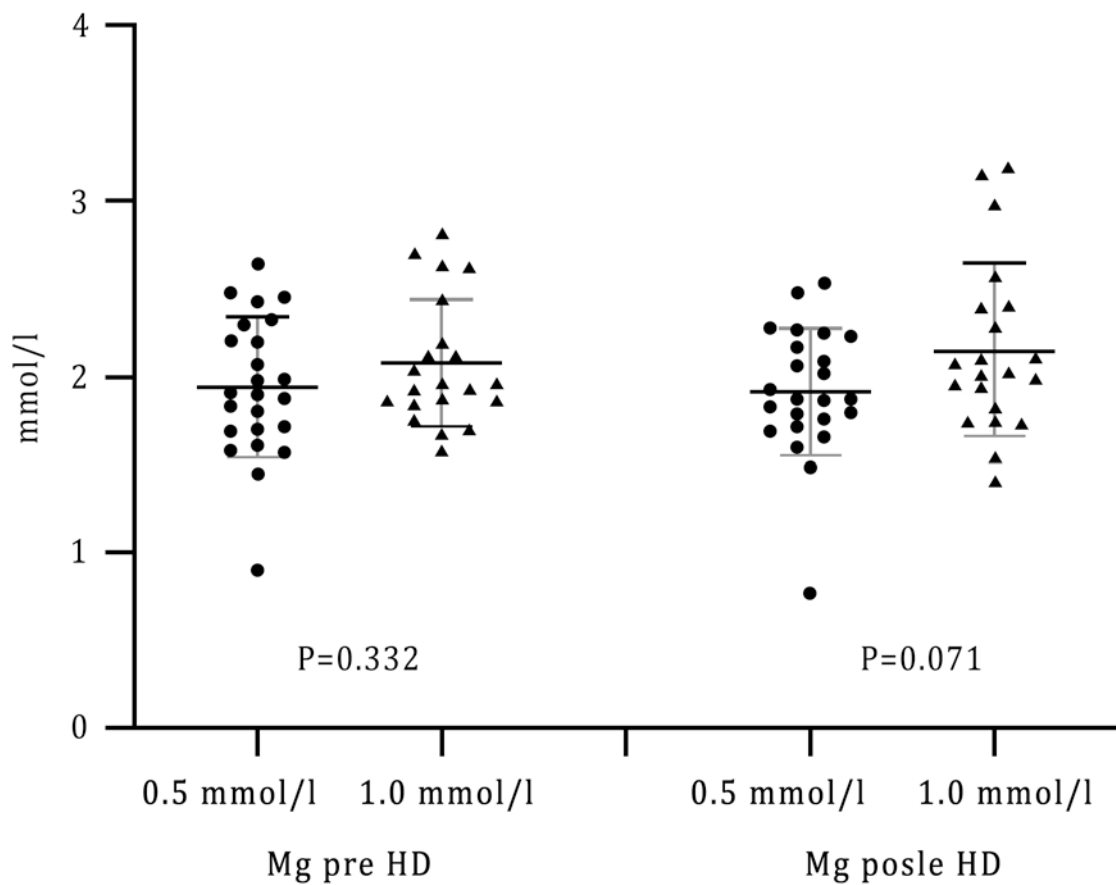
Ukupna serumska koncentracija Mg je bila značajno niža kod bolesnika dijaliziranih rastvorima sa 0,5 mmol/L Mg pre i nakon obavljene dijalize, u poređenju sa drugom grupom ($p < 0,001$) (Grafikon 2).

Kod šest bolesnika (26%) u grupi dijaliziranih rastvorima sa 0,5 mmol/L Mg je izmerena lako povišena koncentracija serumskog Mg pre dijalize, dok je 16 bolesnika (80%) dijaliziranih rastvorima sa višim koncentracijama Mg imalo vrednosti veće od referentnih (Grafikon 2). Vrednost serumskog Mg je smanjena kod bolesnika dijaliziranih sa 0,5 mmol/L Mg nakon obavljene hemodijalize, za razliku od grupe sa 1,0 mmol/L, Mg u dijaliznoj tečnosti gde je kod 9 bolesnika (45%) izmerena veća koncentracija nakon dijalize (Grafikon 2). Ipak, kao što je prethodno prikazano u tabeli 8, intradijalizna promena serumske koncentracije Mg nije dostigla statistički značajnu razliku kod bolesnika koji su dijalizirani rastvorima sa 1,0 mmol/L Mg ($p = 0,926$).



Grafikon 2. Serumska koncentracija Mg pre i nakon pojedinačnog hemodijaliznog tretmana u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

Vrednost intraeritrocitnog Mg opada nakon hemodijalize kad se primenjuje 0,5 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti, a raste kad se primenjuje 1,0 mmol/L Mg. Uprkos navedenim promenama, nije uočena statistički značajna razlika između poređenih grupa bolesnika pre i nakon obavljene hemodijalize (Grafikon 3).



Grafikon 3. Intraeritrocitna koncentracija Mg pre i nakon pojedinačnog hemodijaliznog tretmana u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

4.3. Vrednosti kalcijumskog skora koronarnih arterija

U grupi gde su primenjivane niže koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima vrednost ukupnog CACS izraženog u Agatston jedinicama na početku istraživanja je bila jednaka nuli kod 4 (13,33%) bolesnika, a maksimalna vrednost (3704) je registrovana kod jednog (3,33%) bolesnika. CACS veći od 400, kao parameter ekstenzivnosti lezije, je izmeren kod 6 (20,0%) bolesnika na početku istraživanja. Nakon 12 meseci CACS jednak nuli je izmeren kod 2 (6,67%) bolesnika, maksimalna vrednost (3761) kod jednog (3,33%) bolesnika, dok je CACS veći od 400 izmeren kod 10 (33,33%) bolesnika.

U grupi gde su primenjivane veće koncentracija Mg ukupni CACS izražen u Agatston jedinicama na početku istraživanja je bio jednak nuli kod 5 (16,67%) bolesnika, a maksimalna vrednost (2015) je registrovana kod jednog (3,33%) bolesnika. CACS veći od 400 je izmeren kod 11(36,67%) bolesnika. Nakon 12 meseci CACS jednak nuli je izmeren kod 5 (16,67%) bolesnika, maksimalna vrednost (2129) kod jednog (3,33%) bolesnika, dok je CACS veći od 400 izmeren kod 12 (40%) bolesnika.

Poređenjem prosečnih vrednosti CACS (Agatston) nije uočena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa na početku istraživanja ($p=0,761$) niti nakon 12 meseci praćenja ($p=0,581$).

Poređenjem CACS na početku istraživanja i nakon 12 meseci praćenja su registrovane značajne promene među svim arterijama, osim LM, kod bolesnika kod kojih su primenjivani dijalizni rastvori niže koncentracije Mg (tabela 9). Među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti su statistički značajne razlike tokom 12 meseci praćenja registrovane u među svim arterijama, osim LM izražen u Agatston jedinicama i zapremini i Cx izražen u Agatston jedinicama (tabela 9).

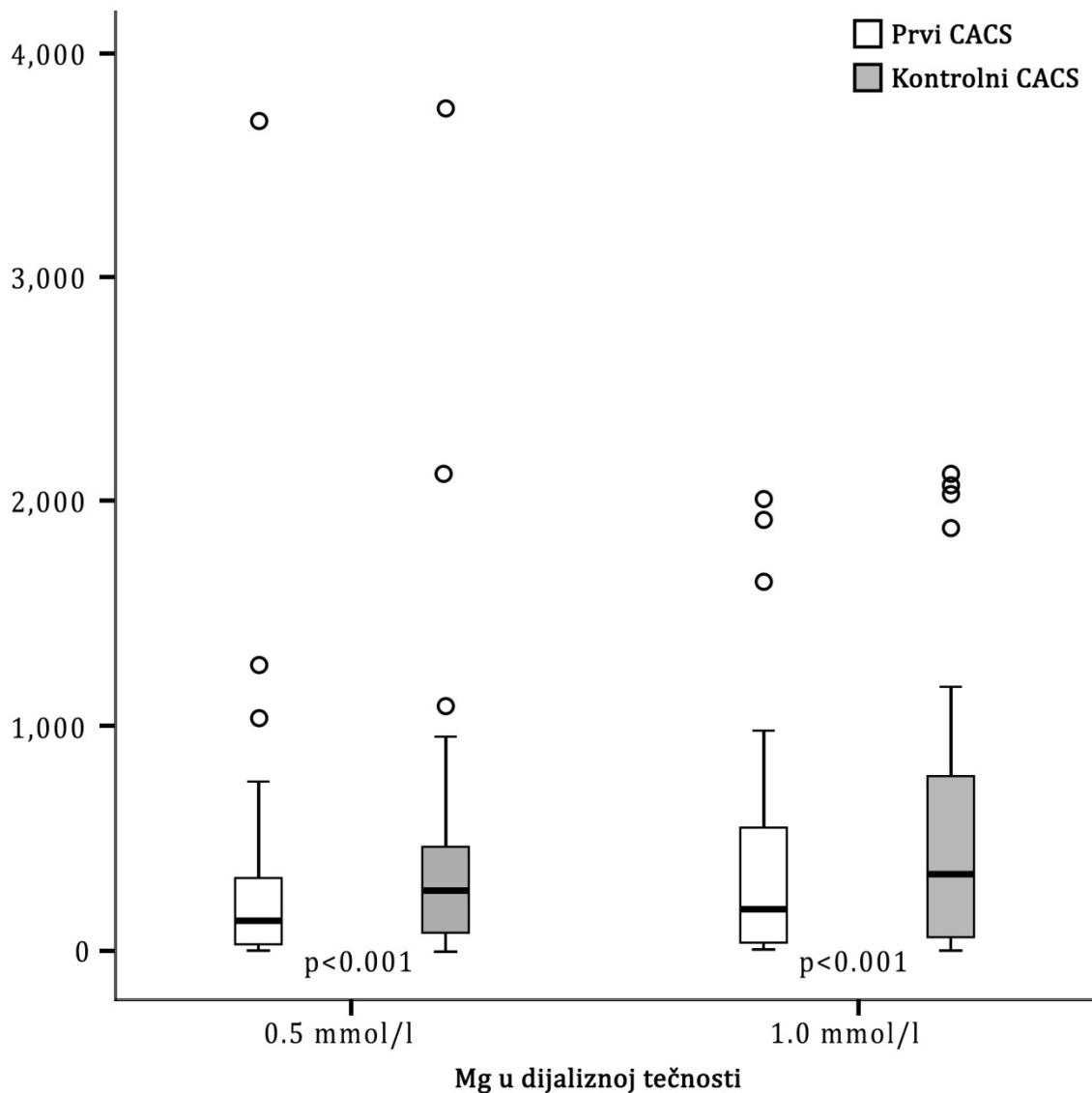
Tabela 9. Promene kalcijumskog skora koronarnih arterija nakon 12 meseci hroničnog programa hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

CACS	Mg 0.5 mmol/L			Mg 1.0 mmol/L		
	Početak	Posle 12 meseci	p*	Početak	Posle 12 meseci	p*
<i>Ukupno (Agatston)</i>	361.90±725.67	480.00±783.53	<0.001	437.71±573.77	589.07±682.82	<0.001
<i>Ukupno (mm³)</i>	326.89±591.79	427.46±625.29	0.001	391.86±481.27	528.61±588.80	<0.001
<i>RCA (Agatston)</i>	136.57±455.09	177.68±486.74	<0.001	176.68±334.54	222.57±343.94	0.002
<i>RCA (mm³)</i>	124.82±380.31	156.64±378.68	0.001	161.57±285.23	209.89±305.79	0.002
<i>LAD (Agatston)</i>	148.43±246.42	184.96±274.78	0.007	188.32±253.78	244.89±282.37	0.001
<i>LAD (mm³)</i>	129.11±198.49	163.79±225.67	0.006	160.54±200.42	211.11±229.57	<0.001
<i>Cx (Agatston)</i>	50.82±127.44	73.21±115.73	0.004	66.04±106.89	73.89±103.09	0.085
<i>Cx (mm³)</i>	49.39±107.34	67.96±97.61	0.025	63.04±90.56	72.18±94.47	0.043
<i>LM (Agatston)</i>	26.07±50.16	8.11±87.21	0.280	28.32±73.81	52.36±117.42	0.110
<i>LM (mm³)</i>	23.61±42.17	32.57±67.26	0.255	22.50±56.91	41.71±91.04	0.123

*Wilcoxon test

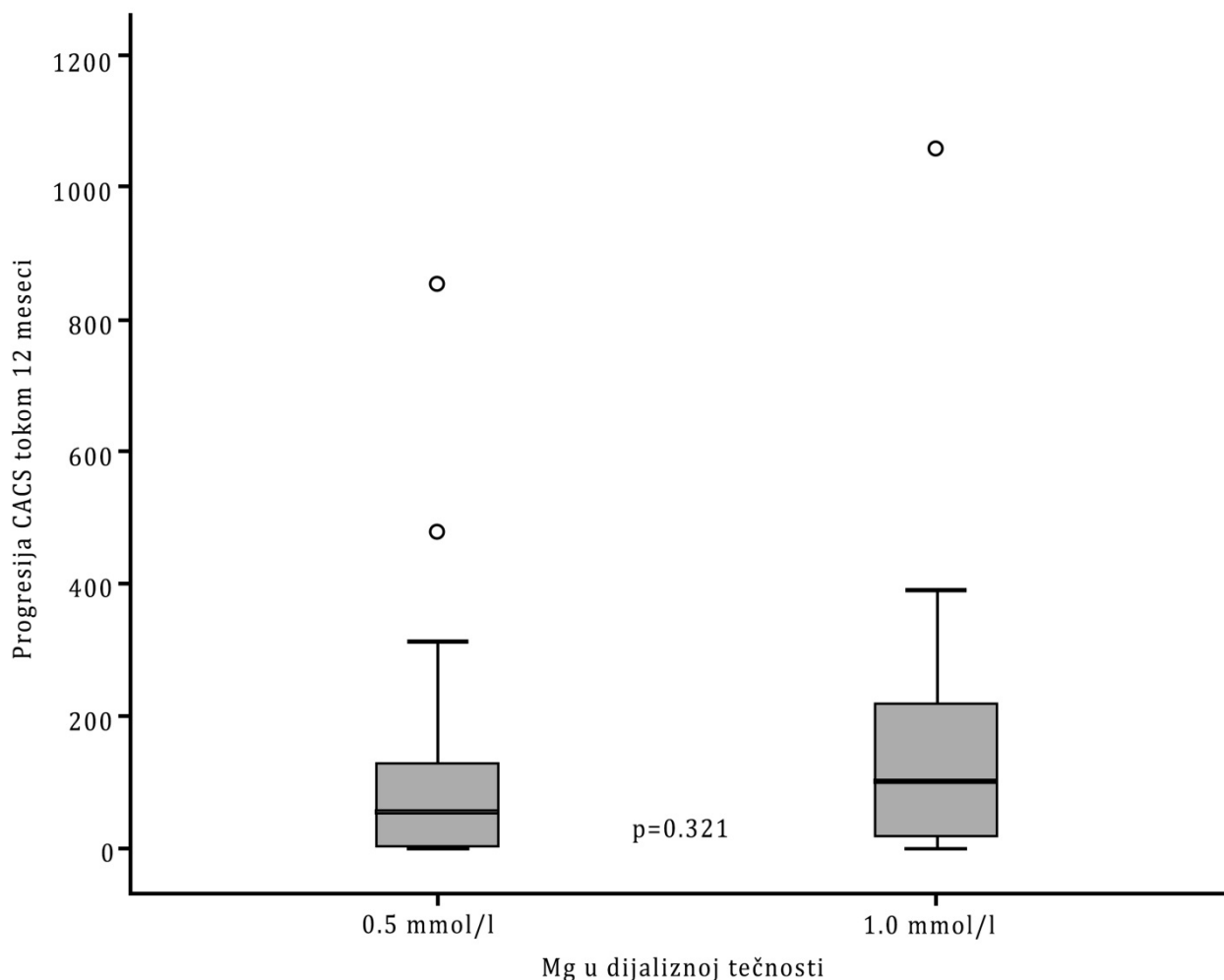
** Skraćenice: LAD - prednja descedentna koronarna arterija, LM - glavno stablo leve koronarne arterije, RCA - desna koronarna arterija, Cx - cirkumfleksna koronarna arterija

Registrovan je statistički značajan porast vrednosti CACS nakon 12 meseci studijskog praćenja u obe grupe bolesnika, nezavisno od primenjene koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima ($p < 0,001$) (grafikon 4).



Grafikon 4. Kalcijumski skor koronarnih arterija (CACS) na početku istraživanja i nakon 12 meseci hroničnog programa hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

Prosečna promena vrednosti CACS (Δ CACS) tokom 12 meseci praćenja se nije značajno razlikovala među studijskim grupama. Među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 0,5 mol/L Mg u dijaliznim rastvorima Δ CACS je iznosio $109,29 \pm 34,39$, a među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti $151,86 \pm 39,92$ ($p=0,321$) (grafikon 5).



Grafikon 5. Promena kalcijumskog skora koronarnih arterija nakon 12 meseci hroničnog programa hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

Na početku istraživanja je ukupno 9 bolesnika imalo CACS jednak nuli; 4 bolesnika u grupi koja je redovno primenjivala 0,5 mmol/L Mg u dijaliznom rastvoru i 5 bolesnika u grupi koja je primenjivala 1,0 mmol/L Mg u dijaliznom rastvoru. Progresija CACS tokom 12 meseci praćenja kod ovih bolesnika se nije značajno razlikovala ($p=0,180$). Δ CACS je iznosio $21,25 \pm 3,96$ kod bolesnika sa nižom koncentracijom Mg u dijaliznom rastvoru, dok je u grupi sa većim koncentracijama Mg u dijaliznom rastvoru CACS nakon 12 meseci praćenja ostao jednak nuli kao i na početku istraživanja.

4.4. Rezultati MSCT koronarografije

Prema rezultatima CCTA pregleda, među ispitanicima koji su na hroničnom programu HD primenjivali 0,5 mmol/L Mg u dijaliznim rastvorima, 19 (63,33%) ispitanika nije imalo značajnu (> 50 %) stenozu koronarnih arterija, 8 (26,67%) ispitanika je imalo značajnu stenozu jedne koronarne arterije, 2 (6,67%) ispitanika su imala dva krvna suda sa značajnom stenozom i 1 (3,33%) ispitanik sve tri koronarne arterije sa stenozom većom od 50%. Slični rezultati su zabeleženi i među bolesnicima kod kojih se na hroničnom programu HD primenjuju rastvori koncentracije 1,0 mmol/L Mg. Među njima, 17 (56,67%) ispitanika nije imalo značajnu stenozu koronarnih arterija, 9 (30%) bolesnika je imalo ovaj stepen stenozu u jednoj koronarnoj arteriji, 2 (6,67%) sa dve značajno stenozirane koronarne arterije i 2 (6,67%) ispitanika su imala značajnu stenozu tri koronarne arterije.

4.5. Vrednosti intimo-medijalnog zadebljanja

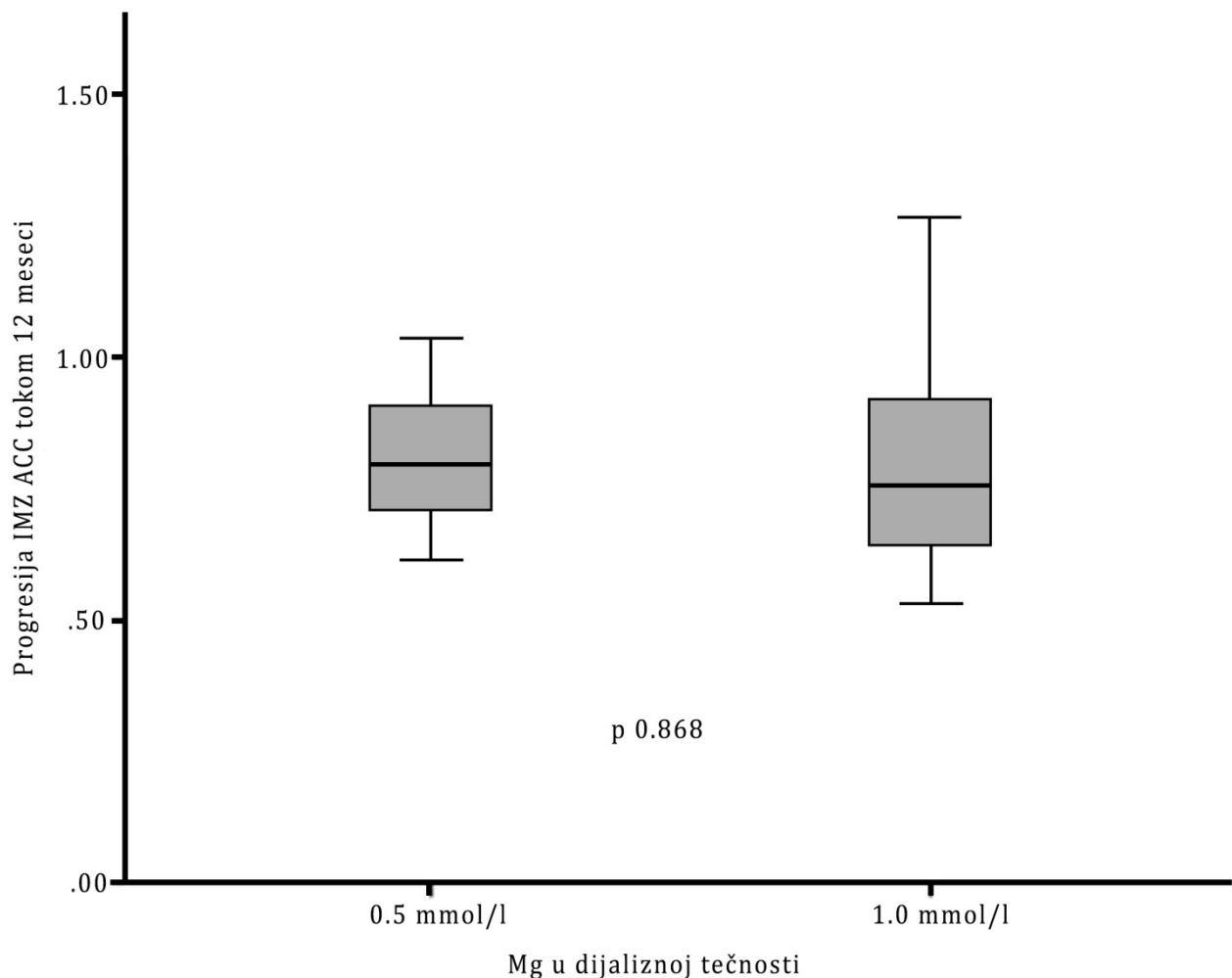
Nije bilo značajne razlike u prosečnim vrednostima IMZ na zajedničkoj karotidnoj i zajedničkoj femoralnoj arteriji, kao ni u promeni IMZ ispitivanih arterija tokom 12 meseci praćenja, među grupama u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima (Tabela 10).

Tabela 10. Promene intimo-medijalnog zadebljanja leve i desne zajedničke karotidne i zajedničke femoralne arterije nakon 12 meseci hroničnog programa hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

IMZ	Mg 0.5 mmol/L	Mg 1.0 mmol/L	p-vrednost
ACC na početku	0.84±0.19	0.78±0.18	0.258
AFC na početku	1.04±0.32	0.98±0.25	0.554
ACC nakon 12 meseci	0.87±0.28	0.80±0.15	0.477
AFC nakon 12 meseci	1.07±0.37	1.00±0.28	0.565
Delta IMZ ACC	0.03±0.18	0.04±0.09	0.868
Delta IMZ AFC	0.02±0.24	0.06±0.25	0.531

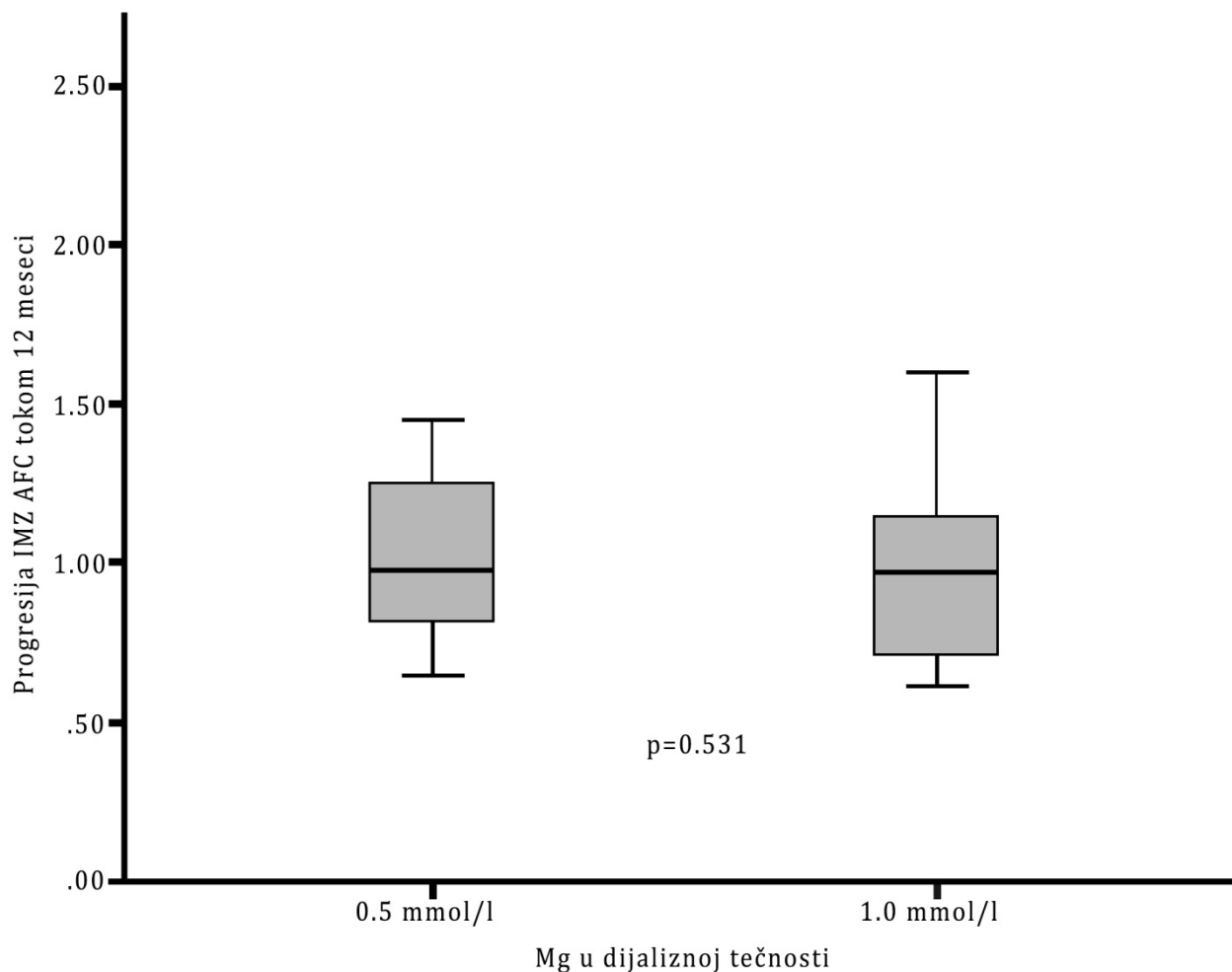
Skraćenice: ACC – zajednička karotidna arterija, AFC – zajednička femoralna arterija, IMZ – intimo-medijalno zadebljanje, Mg – magnezijum

Prosečna promena vrednosti IMZ ACC i AFC tokom 12 meseci praćenja se nije značajno razlikovala među studijskim grupama. Među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 0,5 mol/L Mg u dijaliznim rastvorima Δ IMZ ACC je iznosio $0,03 \pm 0,18$, a među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti $0,03 \pm 0,09$ ($p=0,868$) (grafikon 6).



Grafikon 6. Promena intimo-medijalnog zadebljanja zajedničke karotidne arterije nakon 12 meseci hroničnog programa hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

Među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 0,5 mol/L Mg u dijaliznim rastvorima Δ IMZ AFC je iznosio $0,01 \pm 0,24$, a među bolesnicima kod kojih su primenjivane koncentracije 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti $0,05 \pm 0,25$ ($p=0,531$) (grafikon 7).



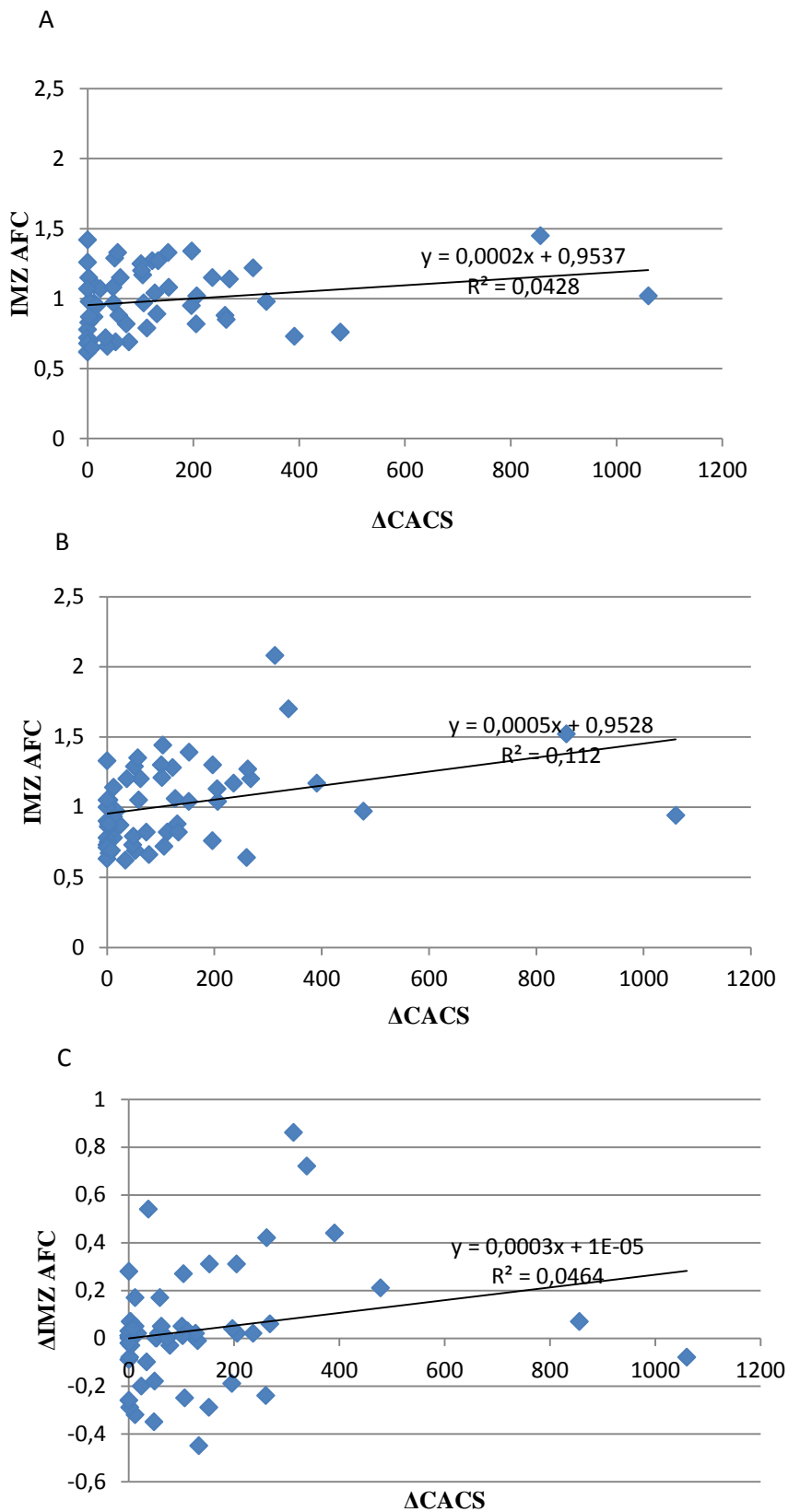
Grafikon 7. Promena intimo-medijalnog zadebljanja zajedničke femoralne arterije nakon 12 meseci hroničnog programa hemodijalize u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (0,5 mmol/L vs 1,0 mmol/L)

Vrednost IMZ karotidnih arterija na početku istraživanja, nakon 12 meseci kao i prosečna promena tokom 12 meseci praćenja nije pokazala značajne korelacije sa CACS (tabela 11). Nasuprot navedenom, dokazana je značajna slaba pozitivna korelacija Δ CACS sa IMZ AFC na početku istraživanja ($\sigma=0,268$; $P=0,046$), srednje jaka pozitivna korelacija Δ CACS sa IMZ AFC nakon 12 meseci praćenja ($\sigma=0,401$; $P=0,002$), i slabo pozitivna korelacija Δ CACS i Δ AFC ($\sigma=0,278$; $P=0,038$) (grafikon 8).

Tabela 11. Korelacija intimo-medijalnog zadebljanja zajedničke koronarne arterije i zajedničke femoralne arterije sa kalcijum skorom koronarnih arterija na početku istraživanja i sa promenom CACS tokom 12 meseci

IMZ	Prvi CACS		Δ CACS	
	σ/r	p	σ	p
ACC na početku istraživanja	0.249	0.055	0.129	0.344
AFC na početku istraživanja	-0.043	0.743	0.268	0.046
ACC nakon 12 meseci	0.140	0.300	0.171	0.207
AFC nakon 12 meseci	-0.059	0.663	0.401	0.002
Delta IMZ ACC	-0.158	0.240	0.025	0.855
Delta IMZ AFC	0.029	0.829	0.278	0.038

Skraćenice: ACC – zajednička karotidna arterija, AFC – zajednička femoralna arterija, IMZ – intimo-medijalno zadebljanje, Mg – magnezijum



Grafikon 8. Korelacija Δ CACS sa IMZ zajedničke femoralne arterije na početku istraživanja (A), na kraju istraživanja (B) i sa Δ IMZ zajedničke femoralne arterije (C)

4.6. Incidencija ishoda tokom perioda praćenja

Nije bilo značajne razlike u pojavi ishoda kod bolesnika nezavisno od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti (Log Rank=0,001; p=0,993). U grupi bolesnika kod kojih je tokom dijalize primenjivana koncentracija 0,5 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti je tokom 12 meseci studijskog praćenja registrovan jedan (3,33%) smrtni ishod kao posledica sepse, jedan (3,33%) bolesnik je imao infarkt miokarda i registrovan je paroksizam atrijalne fibrilacije kod jednog (3,33%) bolesnika. U grupi u kojoj je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti su registrovana dva (6,67%) smrtna ishoda, kao posledica sepse i smrt nepoznatog uzroka, ali nije bilo registrovanih infarkta miokarda niti paroksizama atrijalne fibrilacije.

U tabeli su prikazani rezultati Cox regresione analize parametara merenih na početku istraživanja i njihovih prediktorskih dejstava na ishod.

Tabela 12. Cox regresiona analiza parametara merenih na početku studije na ishod (smrt, infarkt)

	OR	95%CI	p
CACS (Agatston)	1.000	0.999-1.001	0.757
CACS (mm ³)	1.000	0.999-1.002	0.804
Mg	0.244	0.002-27.783	0.560

Skraćenice: Mg – magnezijum, CACS – kalcijumski skor koronarnih arterija

5. Diskusija

Primena različitih koncentracija magnezijuma u dijaliznoj tečnosti je decenijama bila zapostavljena tema u naučnim krugovima. Međutim, tokom poslednjih nekoliko godina dokazana je povezanost viših serumskih koncentracija Mg sa smanjenjem kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta među bolesnicima na hroničnom programu dijalize (82-84,91-102). Pomenuta istraživanja su istakla mogućnost primene Mg u prevenciji kardiovaskularnog obolevanja među bolesnicima na HD, nakon čega su intenzivirana istraživanja optimalnog načina suplementacije Mg. Obzirom da je uticaj većih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima na progresiju ateroskleroze i redukciju KV oboljenja još uvek nedovoljno proučen, primena ovih rastvora u terapijske svrhe je i dalje veoma ograničena.

U ovom istraživanju ispitivan je uticaj primene različitih koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti tokom hroničnog programa HD na vrednosti serumskog i intraeritrocitnog Mg, te posledično na razvoj ateroskleroze. Prema našem saznanju i pregledom dostupne literature, ovo je prvo istraživanje do sada sprovedeno sa ciljem poređenja razvoja CACS i IMZ tokom 12 meseci redovne HD kod bolesnika kod kojih su primenjivani dijalizni rastvori sa koncentracijom Mg od 0,5 mmol/L ili 1,0 mmol/L.

Rezultati našeg istraživanja ukazuju da je vrednost serumskog Mg značajno manja ukoliko se primenuju dijalizni rastvori sa 0,5 mmol/L Mg u poređenju sa 1,0 mmol/L. Niže koncentracije serumskog Mg u grupi u kojoj je primenjena koncentracija 0,5 mmol/L Mg su registrovane na početku istraživanja, ali se održavaju i nakon 12 meseci praćenja. Ipak, značajno je da se vrednost serumskog Mg u obe ispitivane grupe smanjuje tokom 12 meseci dijalize. Uprkos navedenom smanjenju serumske koncentracije Mg tokom perioda praćenja, u grupi u kojoj je primenjivana veća koncentracija Mg pokazano je da se ukupna serumska koncentracija održava iznad referentnog opsega, odnosno rezultati ukazuju na hipermagnezijemiju. Prikazani rezultati su u skladu sa rezultatima drugih studija koje pored različitih koncentracija primenjenog Mg, iako su za veće koncentracije uglavnom primenjivani rastvori sa 0,75 mmol/L Mg umesto 1,0 mmol/L (86,91,93). Tako su *Kuchle* i saradnici kod 34 bolesnika kod kojih je prvobitno primenjivana koncentracija 0,5 mmol/L Mg u dijaliznom rastvoru, a zatim koncentracija 0,75 mmol/L Mg, registrovali značajan porast vrednosti ukupnog serumskog i jonizovanog Mg nakon 6 meseci (93). Povišene vrednosti Mg su se u pomenutoj studiji održavale i nakon 18 meseci dijalize sa 0,75 mmol/L Mg u dijaliznom rastvoru. Kao potvrda uticaja većih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima na porast serumske koncentracije Mg, *Bressendorff* i saradnici su u nedavno objavljenoj studiji potvrdili porast vrednosti serumskog Mg kod bolesnika koji su nakon primene 0,5 mmol/L Mg u dijaliznom rastvoru prevedeni na koncentraciju 1,0 mmol/L (91). U navedenoj studiji je postignuto ravnotežno stanje (*steady state*) serumskog Mg nakon 7 dana, koje se održavalo tokom 28 dana studijskog praćenja.

Primena 0,5 mmol/L Mg u dijaliznim rastvorima izaziva smanjenje ukupnog serumskog Mg nakon obavljenog dijaliznog tretmana, dok primena 1,0 mmol/L ne dovodi do promene ukupne serumske koncentracije Mg. Osim našeg istraživanja, slične rezultate prilikom primene 0,5 mmol/L Mg su objavili *Kuchle* i saradnici, ali je umesto koncentracije ukupnog serumskog Mg određivan jonizovani Mg (93). Smanjenje koncentracije ukupnog serumskog Mg nakon obavljenog HD tretmana primenom 0,5 mmol/L je takođe potvrdio *Leenders* sa saradnicima, navodeći izraženiji pad ukoliko je magnezijemija pre dijalize veća od 0,74 mmol/L (83). Prema preporukama njihove istraživačke grupe, neophodno je razmotriti da li je koncentracija Mg od 0,5 mmol/L u dijaliznim rastvorima previše niska za rutinsku upotrebu tokom hroničnog programa HD obzirom da izaziva značajno smanjenje serumskih vrednosti Mg. Važno je istaći da su i drugi autori svojim dosadašnjim istraživanjima istakli

neophodnost određivanja optimalne koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima u rutinskoj primeni na HD, sa ciljem uspostavljanja adekvatne kontrole magnezijemije (87,92,94,98). *Floege* smatra da je primena koncentracija Mg 0,5 mmol/L i 0,75 mmol/L još uvek opravdana kod većine bolesnika na hroničnom programu HD, ali da će buduća istraživanja ukazati na prednosti primene većih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima (92).

Rezultati našeg istraživanja potvrđuju da klirens Mg zavisi prevashodno od koncentracije Mg u dijaliznom rastvoru. Samim tim, obzirom da je koncentracija 1,0 mmol/L najbliža fiziološkim vrednostima magnezijemije, očekivano je da primena rastvora koncentracije 1,0 mmol/L Mg ne dovodi do značajne promene vrednosti serumskog Mg. Ipak, zabrinjavajuće je što je vrednost serumске magnezijemije kod većine bolesnika iznad referentnog opsega prilikom primene dijaliznih rastvora sa 1,0 mmol/L Mg. S druge strane, hipermagnezijemija izražena samo kroz vrednosti serumskog Mg nije pouzdan marker za procenu realnog statusa magnezijuma u telu. Stoga, kao dodatni parameter u proceni rizika od hipermagnezijemije je značajan podatak vrednost intraeritrocitnog magnezijuma, što je u ovoj studiji i urađeno.

Dobijeni rezultati našeg istraživanja ukazuju da se vrednost intraeritrocitnog Mg ne menja značajno tokom dijaliznog tretmana, nezavisno od primenjene koncentracije dijaliznog Mg. Štaviše, intraeritrocitni Mg se održava u referentnom opsegu prilikom oba merenja, odnosno i pre i nakon obavljene dijalize, u obe ispitivane grupe bolesnika. Na osnovu prikazanih rezultata može se zaključiti da primenom većih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima, nezavisno od nalaza hipermagnezijemije u serumu, ne postoji veći rizik od intraeritrocitne hipermagnezijemije u poređenju sa primenom manjih koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti. Zapravo, nalaz intraeritrocitnog Mg daje bolji uvid u status Mg, dok serumске vrednosti prikazuju više „lažno pozitivnih” nalaza. Rezultati našeg istraživanja su u skladu sa drugim sličnim ispitivanjima. Tako su *del Giorno* i saradnici dokazali da bolesnici kod kojih je rutinski primenjivana koncentracija 0,5 mmol/L Mg imaju jonizovani Mg u referentnom opsegu uprkos visokim vrednostima ukupnog serumskog Mg (22). Ipak, ukazali su na mogućnost intra-individualnih cirkadijalnih i sezonskih varijacija magnezijemije, te da se izdvajaju pojedinci kod kojih je veći rizik od hipermagnezijemije ukoliko bi se primenile veće koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima. Prema rezultatima navedenog istraživanja rizičnu grupu su činile uglavnom mlade žene boljeg nutritivnog statusa (visoke vrednosti uree i visok odnos proteina i kreatinina) (22). Rezultati našeg istraživanja, odnosno vrednost intraeritrocitnog Mg u referentnom opsegu nezavisno od primenjene koncentracije Mg, ukazuju da ne postoji veći rizik od simptoma hipermagnezijemije ukoliko se primenjuje koncentracija 1,0 mmol/L u poređenju sa 0,5 mmol/L. Prethodno sprovedena istraživanja drugih autora nisu regostovala simptome i znakove hipermagnezijemije među ispitanicima, na osnovu čega su zaključili da klinički prepoznatljiva hipermagnezijemija nastaje u uslovima ekstremno visokih vrednosti serumskog Mg (>2 mmol/L) pre nego umereno visokih (>1,15 mmol/L) (91,93,124-126). Dodatno, istraživanja koja su se bavile određivanjem optimalne serumске koncentracije Mg među bolesnicima na hroničnom programu dijalize, predlažu da referentne vrednosti za serumski Mg budu veće nego za opštu populaciju (83,124,125). *Sakaguchi* i saradnici savetuju da koncentracija serumskog magnezijuma bude 1,27 mmol/L, jer je prema rezultatima njihovog istraživanja ta vrednost u HBI povezana sa prevencijom kardiovaskularnih bolesti i smanjenjem mortaliteta (125).

Na osnovu svega navedenog, može se zaključiti da primena većih koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti rezultira porastom vrednosti serumskog magnezijuma, dok se vrednosti intraeritrocitnog Mg održavaju u optimalnom opsegu. Smatramo da naše istraživanje pruža značajan uvid u promene koncentracije magnezijuma tokom dijaliznog tretmana u zavisnosti od primenjene koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima. Kako su već poznate prednosti

primene većih serumskih koncentracija Mg na smanjenje ukupnog i kardiovaskularnog morbiditeta i smanjenje mortaliteta u HBI, dalja analiza će ukazati na mogućnost primene ovih rastvora u prevenciji i/ili terapiji KV oboljenja bolesnika na hemodijalizi.

Regulacija sekrecije PTH stimulacijom CaS receptora jonima Ca je odavno poznata (69-71). Nasuprot tome, iako su studije pokazale povezanost visoke ekstracelularne koncentracije Mg sa smanjenom sekrecijom PTH u dijaliznoj populaciji, mehanizam dejstva je nedovoljno proučen (84,87,124,127). Do sada objavljena literatura ukazuje da Mg, kao dvovalentni katjon i inhibitor CaS receptora, omogućava inhibiciju sekrecije PTH. Naše istraživanje potvrđuje da se vrednosti Ca i P ne razlikuju značajno između grupa na početku istraživanja niti nakon 12 meseci redovne hemodijalize primenom iste koncentracije Mg, dok je vrednost PTH značajno veća u grupi bolesnika kod kojih je primenjivana niža koncentracija Mg prilikom oba merenja. Vrednost PTH je porasla, ali bez dostizanja statističke značajnosti, nakon 12 meseci HD sa primenom 0,5 mmol/L Mg. Za razliku od navedenog, nije registrovana promena vrednosti PTH prilikom primene 1,0 mmol/L Mg u dijaliznim rastvorima nakon 12 meseci. Navedeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima studije sličnog dizajna, u kojoj su praćeni bolesnici tokom 30 meseci dijalize sa rastvorima koncentracije 0,75 mmol/L (93). Dodatno je do zanimljivih saznanja u ovoj oblasti dovela studija sprovedena na *Wistar* soju pacova (127). Naime, povećanje koncentracije Mg dovodi do značajnog smanjenja sekrecije PTH isključivo u uslovima izražene hipokalcemije (0,8 mM), dok su u uslovima normokalcemije (1,2 mM) neophodne ekstremno visoke doze Mg (5,0 mM) kako bi se redukovala sekrecija PTH. Takođe, u uslovima normokalcemije, magnezijemija vrednosti 1,0 mM i 2,0 mM nisu dovele do značajne promene PTH. Rezultati navedenog istraživanja ukazuju da je Ca glavni faktor kontrole sekrecije PTH, do četiri puta jači od Mg, ali da Mg poseduje ograničeno inhibitorno dejstvo na sekreciju PTH. Navedeni rezultati dodatno pojašnjavaju i rezultate našeg istraživanja. Preciznije rečeno, obzirom da je vrednost serumskog Ca u našem istraživanju bila u referentnom opsegu nezavisno od primenjenog dijaliznog rastvora i serumске koncentracije Mg, unutar obe studijske grupe nije došlo do značajne promene vrednosti PTH tokom 12 meseci.

Dosadašnji rezultati potvrđuju da je vrednost PTH značajno manja u grupi bolesnika kod kojih je primenjena veća koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima, čime se ističe protektivna sposobnost Mg da smanji sekreciju PTH. Kako je sekundarni hiperparatireoidizam čest prateći komorbiditet HBI, opisani mehanizam supresije sekrecije PTH bi omogućio bolju kontrolu bolesti i redukovao potrebu za paratireoidektomijom u dijaliznoj populaciji. Na ovaj način bi se značajno unapredila terapija sekundarnog hiperparatireoidizma, odnosno omogućilo bi se da samo na osnovu odabira dijaliznih rastvora adekvatne koncentracije Mg, sama HD bude terapija hiperparatireoidizma. Na ovaj način bi se smanjio broj lekova, ali i troškovi lečenja sekundarnog hiperparatireoidizma među bolesnicima na HD. Iako naši podaci ukazuju na niže vrednosti PTH ukoliko se primenjuju veće koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti, radi preciznije procene uticaja Mg u dijaliznoj tečnosti na promenu PTH i terapijske mogućnosti, neophodno je duže praćenje sa većim brojem uključenih bolesnika.

Na početku našeg istraživanja su primećene značajno veće vrednosti holesterola u grupi u kojoj se primenjuje koncentracija 0,5 mmol/L Mg u dijaliznim rastvorima. Nakon 12 meseci u obe grupe se registruje smanjenje holesterolemije, kao i gubitak značajnosti razlike. Prema rezultatima drugih istraživanja, manje vrednosti holesterola su registrovane i prilikom primene 0,75 mmol/L Mg u dijaliznim rastvorima u odnosu na 0,5 mmol/L (86). Smanjenje hiperlipidemije, izraženo vrednostima holesterola, ali ne i triglicerida, je registrovano i kod osoba sa dijabetesom na hroničnom programu HD prilikom peroralne suplementacije Mg u poređenju sa placebom (128). Najverovatnije objašnjenje povoljnog uticaja Mg na vrednost

holesterola je korekcija metaboličkog profila, insulinske rezistencije i metabolizma masti. Ipak, nedostaju veće opservacione studije da bi se značajnost korelacije ova dva parametra pravilno ispitala u dijaliznoj populaciji.

Uticaj različitih koncentracija Mg na parametre inflamacije među bolesnicima na hroničnom programu HD je ispitivan od malog broja autora (86,129). Dobro proučeni biomarkeri hroničnog inflamatornog procesa, kao što su CRP, TNF α , IL-6, su prepoznati kao prediktori KV mortaliteta, ali smatra se da utiču i na progresiju ateroskleroze u HBI, dok se PTX3 se sve češće primenjuje kao novi parametar inflamacije sa velikim potencijalom predviđanja razvoja ateroskleroze, odnosno KV ishoda (130). U našem istraživanju, vrednosti CRP-a, TNF α , IL-6 i PTX3 se nisu značajno razlikovale među grupama, iako su veće kad je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L. Slično su potvrdila istraživanja prilikom primene dijaliznih rastvora sa 0,5 mmol/L Mg u poređenju sa rastvorima koncentracije 0,75 mmol/L Mg (86). Nasuprot tome, značajno smanjenje vrednosti TNF α i IL-6, za oko 20%, je zabeleženo kod bolesnika koji su nakon primene 0,5 mmol/L Mg nastavili sa primenom 1,0 mmol/L Mg u dijaliznom rastvoru tokom 28 dana, dok je u grupi koja je nastavila HD sa 0,5 mmol/L Mg vrednost parametara inflamacije ostala nepromenjena (129). Ipak, u navedenoj studiji na kraju perioda praćenja od 28 dana nije registrovana značajna razlika u promeni TNF α između grupa, dok je IL-6 bio značajno niži kad je primenjivana koncentracija 1,0 mmol/L Mg u dijaliznoj tečnosti. Tumačenjem prikazanih rezultata može se zaključiti da ne postoji razlika u stepenu inflamacije u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg, odnosno da nema razlike u riziku od KV bolesti između ispitivanih grupa. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa vrednostima CACS i IMZ prikazanim u našem istraživanju, što će biti prikazano dalje u tekstu.

Naši rezultati potvrđuju značajan stepen ateroskleroze kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize. Preciznije rečeno, opseg kalcifikacija koronarnih arterija je veoma širok, sa skoro šestinom ukupne populacije bez kalcifikacija do više od četvrtine ispitivane populacije sa izraženom aterosklerozom i vrednostima CACS većim od 400. Ovi rezultati, konzistentni sa literaturnim podacima, potvrđuju da i kod asimptomatskih bolesnika koji su kratak vremenski period na hroničnom programu dijalize postoji značajan stepen kalcifikacija koji zahteva dalju kardiološku evaluaciju (67,131). Kao što je prethodno opisano, visok CACS kod asimptomatskih bolesnika na hroničnom programu HD, za razliku od opšte populacije gde se kalcifikacije tumače kao parametar stabilnosti aterosklerotskog plaka, predstavlja značajan rizik za rupturu plaka i posledično nastanak nepovoljnog KV ishoda. I pored toga što su poznati faktori rizika za KV oboljenja, zbog kompleksnosti strukture koronarnih plakova i lošijih ishoda lečenja bolesnika sa HBI, zvanične internacionalne preporuke za optimalan tip revaskularizacije miokarda (medikamentozna terapija, perkutana koronarna intervencija ili aortokoronarni bajpas) još uvek nisu predložene (62,79-81). Kao posledica, ističe se značaj pravovremenog skrininga bolesnika sa HBI (79-81,131). S tim u vezi, važno je istaći da rezultati našeg istraživanja ukazuju na značaj primene MSCT koronarografije i određivanje CACS kod asimptomatskih bolesnika na hroničnom programu HD. Prema preporukama aktuelnog KDIGO vodiča CT predstavlja metod izbora za detekciju vaskularnih kalcifikacija u HBI, ali još uvek nije obavezna primena kod svih asimptomatskih bolesnika prilikom započinjanja HD. Savetuje se primena kod bolesnika sa izraženom hiperfosfatemijom, prilikom pripreme za transplantaciju bubrega ili ukoliko ordinirajući lekar smatra da potvrda postojanja vaskularnih kalcifikacija utiče na dalje lečenje bolesnika (80). Ipak, tokom poslednjih godina sve veći broj autora ističe značaj određivanja CACS u proceni rizika za KV komorbiditet i za odabir bolesnika koji zahtevaju dodatnu dijagnostiku bolesti koronarnih arterija (58,132).

Uprkos očekivanjima zasnovanim na *in vitro* i istraživanjima na animalnim modelima, rezultati našeg istraživanja nisu potvrdili razliku u CACS između ispitivanih grupa bolesnika u

zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti. Zapravo, iako su bolesnici sa većim koncentracijama Mg u dijaliznoj tečnosti istovremeno imali i značajno više vrednosti serumskog Mg, kod njih nije registrovan manji stepen vaskularnih kalcifikacija u poređenju sa drugom grupom. Dodatno, porast CACS tokom 12 meseci praćenja je bio značajan u obe grupe, nezavisno od primenjene koncentracije Mg. Ovakvi rezultati su naizgled iznenađujući, obzirom da su prethodna istraživanja ukazivala na protektivni efekat viših koncentracija Mg na razvoj kalcifikacija (86,94). Ipak, detaljnim poređenjem dostupne literature sa našim istraživanjem, uviđaju se značajne razlike u metodologiji koje objašnjavaju dobijene rezultate.

Dosadašnja ispitivanja, koja su utvrdila uticaj serumskih vrednosti magnezijuma na razvoj vaskularnih kalcifikacija, su prevashodno sprovedena u laboratorijskim uslovima (94-97,99,100). Značaj navedenih ispitivanja je nedvosmislen, obzirom da prikazuju nekoliko različitih molekularnih mehanizama kojima serumski Mg sprečava nastanak kalcifikacija krvnih sudova, kao što su redukcija formiranja i precipitacije kristala hidroksiapatita i inhibicija diferencijacije glatkih mišićnih ćelija krvnih sudova. Naknadno su opservacione studije takođe potvrdile značaj većih serumskih koncentracija magnezijuma na manju prevalenciju ukupnog mortaliteta i mortaliteta zbog KV uzroka, kako u opštoj populaciji tako i među bolesnicima na hroničnom programu HD (82,84,98,101-104). Ipak, navedena klinička ispitivanja su, za razliku od našeg istraživanja, metodološki koncipirana kao opservacione studije koje porede serumske koncentracije Mg sa kliničkim ishodom ili kao studije preseka sa poređenjem serumske koncentracije Mg sa vrednostima IMZ ili CACS u jednom trenutku. Za razliku od navedenih studija, u našem istraživanju, koje je sprovedeno po tipu prospektivne studije, analizirana je vrednost serumskog Mg, te posledično promena CACS i IMZ tokom perioda od 12 meseci. Na ovaj način, poređenjem mešovanih grupa ispitanika, omogućena je precizna procena uticaja različitih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima na serumsku vrednost Mg i njihova povezanost sa parametrima ateroskleroze i uticaj na progresiju ateroskleroze tokom 12 meseci, a ne samo kardiovaskularni ishod. Prema našem saznanju, ovo je jedino istraživanje koje je na opisani način analiziralo razvoj ateroskleroze među bolesnicima na HD u zavisnosti od koncentracije Mg u serumu i dijaliznom rastvoru.

Slično našim rezultatima, nedavno objavljeni podaci iz *Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)* studije su pokazali da niske vrednosti serumskog Mg predstavljaju manje značajan faktor rizika za perifernu arterijsku bolest kod bolesnika sa HBI (133,134). Jaka negativna korelacija je primećena između vrednosti serumskog Mg i ateroskleroze jedino kod bolesnika sa procenjenom JGF većom od 60 ml/min/1.73 m², dok nije primećena povezanost kod bolesnika sa manjim vrednostima JGF. *Ter Braake et al.* su takođe potvrdili da suplementacija Mg može da suprimira vaskularne kalcifikacije inhibicijom tranzicije primarnih kalcioproteinskih partikula (KPP1) u sekundarne kalcioproteinske partikule (KPP2). Ipak, kad su KPP2 već formirane, Mg ne može da spreči dalji proces kalcifikacije (135). Samim tim, podaci ukazuju da suplementacija Mg ima uticaj na sprečavanje kalcifikacije samo dok depoziti kalcijuma još uvek nisu formirani (133-135). Pored navedenog, nedavno objavljena prospektivna opservaciona studija kojom je obuhvaćeno 353 bolesnika na HD takođe potvrđuje da nema značajne razlike u vrednosti CACS u zavisnosti od vrednosti serumskog Mg < 2.4 mg/dl (oko 1,0 mmol/L) ili ≥ 2.4 mg/dl (136).

Zapažanja navedenih studija su podudarna sa našim rezultatima, te upućuju na značaj primene većih koncentracija Mg kod bolesnika koji nemaju vaskularne kalcifikacije u momentu započinjanja HD. Naše istraživanje potvrđuje da kod bolesnika koji su imali CACS jednak nuli na početku istraživanja, a primenjivali su veće koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti, CACS ostaje nepromenjen tokom 12 meseci praćenja. Za razliku od toga, u drugoj grupi je zabeležena tendencija porasta CACS, iako statistički bez značaja, što može biti posledica kratkog vremenskog perioda praćenja.

Sakaguchi sa saradnicima je istakao da je gustina kalcifikacija koronarnih arterija, izražena kroz odnos CACS i površine kalcifikacije, obrnuto proporcionalno povezana sa serumskim vrednostima Mg kod bolesnika sa visokim vrednostima fosfatemije ($>1,10$ mmol/L) (137). Hiperfosfatemija kao neophodan preduslov za nastanak vaskularnih kalcifikacija, ali i potencijalna meta delovanja serumskog Mg u prevenciji kalcifikacija, je potvrđena i od drugih autora (67-69,129,133). Samim tim, kao dodatnu prednost našeg istraživanja, neophodno je istaći da nije primećena razlika u serumskim vrednostima P između ispitivanih grupa ni na početku istraživanja niti nakon 12 meseci praćenja, te vrednost fosfatemije nije uticala na naše rezultate.

Prikazani inhibitorni potencijal Mg u posebnim okolnostima, odnosno isključivo kod bolesnika bez vaskularnih kalcifikacija, sugeriše da bi primena većih koncentracija Mg u ovoj grupi bolesnika potencijalno omogućila prevenciju kardiovaskularnog oboljevanja. Kako važeće preporuke podrazumevaju pravovremeni skrining asimptomatskih bolesnika pre započinjanja HD, naši rezultati ukazuju da bi na osnovu vrednosti CACS neposredno pre započinjanja hroničnog programa dijalize mogli da se odrede bolesnici kod kojih bi primena većih koncentracija Mg u dijaliznim rastvorima prevenirala nastanak vaskularnih kalcifikacija. Na osnovu dobijenih rezultata, bilo bi od značaja sprovesti randomizovano istraživanje na većem broju ispitanika sa trajanjem HD duže od 12 meseci.

Rezultati našeg ispitivanja ne ukazuju na razlike u stepenu stenoze koronarnih arterija među ispitivanim grupama bolesnika. Značajno je istaći da je među ispitivanom populacijom dijagnostikovana višesudovna koronarna bolest kod velikog broja bolesnika, iako se ne prezentuje tipičnom kliničkom slikom. Ovakav rezultat dodatno ističe značaj primene KV skrininga kod bolesnika sa uznapredovalom bolesti bubrega. Pregledom literature, primećen je mali broj istraživanja koji je ispitivao primenu CCTA među bolesnicima na hroničnom programu HD (132).

Naše istraživanje ne ukazuje na razlike u stepenu ateroskleroze, izražene kroz vrednost IMZ ACC i AFC, u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznim rastvorima. Vrednost IMZ se nije značajno promenila tokom 12 meseci praćenja nezavisno od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti. Dobijeni rezultati koreliraju sa rezultatima promene CACS u našem istraživanju, odnosno potvrđuju izostanak protektivnog uticaja Mg na razvoj ateroskleroze. Pored toga, kao što je prethodno objašnjeno, i vrednosti parametara inflamacije koji ukazuju na KV rizik se ne razlikuju između ispitivanih grupa. Ipak, rezultati drugih studija, u kojima je uglavnom merena samo IMZ karotidnih arterija, ali ne i femoralnih arterija, su konfliktni. Pojedini autori, slično našim rezultatima, nisu dokazali povezanost serumskog Mg i IMZ zajedničke karotidne arterije, ali smatraju da Mg ostvaruje uticaj na vaskularnu rezistenciju (138,139). Nasuprot navedenom, dva istraživanja navode da se nakon kratkog vremenskog perioda, 8 nedelja u jednoj i 24 nedelje u drugoj studiji, peroralne suplementacije preparatima Mg registruje smanjenje IMZ karotidnih arterija (102,128). Ipak, pomenute interventne studije su imale iste nedostatke, poput malog uzorka i kratkog perioda praćenja, ali i velike varijacije u metodologiji prilikom određivanja subkliničke ateroskleroze, IMZ i merenja aterosklerotskog plaka.

Prema podacima Cambray i saradnika neophodna je interakcija Mg i lipida (trigliceridi, HDL i LDL holesterol) kako bi se promenila vrednost IMZ karotidnih arterija. Njihovo istraživanje sugeriše da kad je vrednost serumskog Mg veća od $1,0$ mmol/L nestaje povezanost između visokih vrednosti lipida i ateroskleroze, izražene kroz IMZ zajedničke karotidne arterije (139). Zanimljivo je da ni u ovoj studiji nije otkrivena značajna korelacija između serumskog Mg kao nezavisne varijable i IMZ karotidnih arterija, osim u statističkom modelu u interakciji sa lipidama. Njihova pretpostavka je da visoke vrednosti Mg sprečavaju

oksidaciju lipida i na taj način sprečavaju razvoj ateroskleroze, odnosno da je mehanizam prevencije drugačiji u odnosu na inhibiciju nastanka kristala hidroksiapatita i sprečavanje diferencijacije ćelija glatkih mišića zida krvnih sudova, čime se objašnjava nastanak vaskularnih kalcifikacija koje zahvataju *tunica media* sloj zida krvnog suda.

Prema pojedinim autorima, postoji pozitivna korelacija između IMT ACC i CACS kod bolesnika na hroničnom programu HD (140,141). Naša studija to nije potvrdila, ali je pokazala pozitivnu korelaciju između Δ CACS i IMZ AFC, kao i između Δ CACS i Δ IMZ AFC. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da bi merenje IMZ AFC inicijalno, na početku hroničnog programa HD i praćenje promene nakon 12 meseci, predstavljao jednostavan i pristupačan metod za ranu detekciju subkliničke ateroskleroze kod asimptomatskih bolesnika na dijalizi. Prednost metode je mogućnost izvođenja u ambulantnim uslovima, što je čini optimalnom metodom za rutinsku primenu u dijalizi. Pregledom literature dolazimo do zaključka da nema dovoljno istraživanja koje ispituju IMZ AFC među bolesnicima na dijalizi. AWHs studija je dokazala bolju korelaciju IMZ zajedničke femoralne arterije sa CACS u poređenju sa zajedničkom karotidnom arterijom, ali u opštoj populaciji (142). Prema našem saznanju, i pored toga što rezultati više studija ukazuju na značaj primene IMZ kao prediktora KV rizika, ne postoje istraživanja koja su proučavala povezanost IMZ femoralnih arterija i CACS među bolesnicima na dijalizi. Važeće preporuke za procenu KV rizika među bolesnicima na hroničnom programu dijalize samim tim ni ne ubrajaju primenu IMZ zajedničke femoralne arterije kao dijagnostički kriterijum. Zanimljivo je da čak ni određivanje IMZ zajedničke karotidne arterije u opštoj populaciji, iako prepoznat kao značajan prediktor aterosklerotske bolesti, nije uključen kao dijagnostički parametar u primarnoj prevenciji KV bolesti među asimptomatskim odraslim osobama (81).

Rezultati našeg istraživanja ne ukazuju na razlike u ishodu između ispitivanih grupa, što se može objasniti kratkim periodom praćenja. Slične rezultate je prikazala i studija u kojoj su poređeni dijalizni rastvori koncentracije 0,5 mmol/L i 0,75 mmol/L Mg (86). U navedenom istraživanju nije uočena razlika u ukupnom mortalitetu između grupa tokom 3 godine praćenja, ali je mortalitet zbog KV uzroka procenjivan statističkim modelima na osnovu čega je zaključeno da je primena nižih koncentracija Mg u dijaliznom rastvoru povezana sa većim mortalitetom. Iako naše istraživanje ne ukazuje na veći mortalitet zbog KV uzroka, značajno je pomenuti da je atrijska fibrilacija kao poremećaj ritma registrovan samo kod bolesnika iz grupe gde je primenjena niža koncentracija Mg. Dobijeni rezultat bi mogao da ukaže na bolju ritmičku i hemodinamsku stabilnost ukoliko se primenjuju veće koncentracije Mg u dijaliznom rastvoru, ali zahteva da se sprovede istraživanje kod većeg broja bolesnika u dužem vremenskom periodu uz određivanje dodatnih pokazatelja ritmičke i hemodinamske stabilnosti, kao što su sistolni i dijastolni krvni pritisak, QTc interval na EKG-u, registrovani poremećaji ritma i drugi.

U našem istraživanju vrednost serumskog Mg nije uticala na preživljavanje. Slični rezultati su prikazani u istraživanju izvedenom sa periodom praćenja od 3 godine, gde se hipomagnezijemija nije istakla kao nezavisni prediktor ukupnog mortaliteta i mortaliteta zbog KV uzroka, već je bila povezana sa malnutricijom kao faktorom rizika za mortalitet (136). Nasuprot tome, rezultati kohortne studije sprovedene na uzorku od više od 20 000 bolesnika na hroničnom programu HD su pokazali bolje jednogodišnje preživljavanje ukoliko su vrednosti serumskog Mg veće od 1,05 mmol/L, dok je najveća stopa mortaliteta registrovana u grupi bolesnika sa vrednostima serumskog Mg manjim od 0,65 mmol/L (82). U suprotnosti sa našim rezultatima, različiti istraživači su tokom poslednjih nekoliko godina istakli povezanost viših serumskih koncentracija Mg sa smanjivanjem mortaliteta među bolesnicima na HD (84,86,98,125). Razlike u navedenim studijama se mogu objasniti vrednostima serumskog Mg. Naime, na početku našeg istraživanja u grupi u kojoj su primenjeni dijalizni

rastvori sa 0,5 mmol/L Mg, vrednost serumskog Mg je bila u referentnom opsegu, odnosno bliže gornjoj granici referentnih vrednosti. Za razliku od toga, u drugim istraživanjima se povezanost niže serumske koncentracije Mg sa povećanom stopom mortaliteta odnosila na koncentraciju serumskog Mg manju od 0,95 mmol/L (86,98,143). Samim tim, vrednost serumskog Mg prilikom primene dijaliznih rastvora sa 0,5 mmol/L Mg je bila veća u našem istraživanju nego u upoređenim studijama. Stoga smatramo da se klinički ishod, kao i progresija CACS i IMZ, obe grupe bolesnika obuhvaćenih našim istraživanjem nije značajno razlikovao među grupama, jer su vrednosti serumskog Mg u obe grupe bile podjednako efikasne za postizanje protektivnog potencijala. Slažemo se sa mišljenjem *Sakaguchi* i saradnika da se za bolesnike na HD definiše drugačiji referentni opseg serumskog Mg u odnosu na opštu populaciju (136,143).

6. Zaključci

U skladu sa postavljenim ciljevima istraživanja, a na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Koncentracija serumskog Mg se smanjuje tokom dijaliznog tretmana prilikom primene dijaliznih rastvora sa 0,5 mmol/L Mg, dok nema promene ukoliko se primenjuju rastvori sa 1,0 mmol/L Mg. Koncentracija intraeritrocitnog Mg se ne menja značajno tokom dijaliznog tretmana nezavisno od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti.

2. Koncentracija serumskog Mg se smanjuje tokom 12 meseci praćenja nezavisno od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti, ali je značajno veća prilikom primene dijaliznih tečnosti sa 1,0 mmol/L Mg i na početku istraživanja i nakon 12 meseci praćenja.

3. Progresija kalcijumskog skora koronarnih arterija tokom 12 meseci je bila značajna u obe ispitivane grupe. Na stepen progresije nije uticala primenjena koncentracija Mg u dijaliznoj tečnosti.

4. Progresija IMZ zajedničke karotidne arterije i zajedničke femoralne arterije se nije značajno razlikovala među grupama u zavisnosti od primenjene koncentracije Mg u dijaliznoj tečnosti.

7. Literatura

1. Leenders NHJ, Vervloet MG. Magnesium: A magic bullet for cardiovascular disease in chronic kidney disease? *Nutrients*. 2019;11(2):455.
2. van de Wal-Visscher ER, Kooman JP, van der Sande FM. Magnesium in chronic kidney disease: Should we care? *Blood Purif*. 2018;45:173–178.
3. Razzaque MS. Magnesium: Are we consuming enough?. *Nutrients*. 2018;10(12):1863.
4. Jahnen-Dechent W, Ketteler M. Magnesium basics. *Clinical Kidney Journal*. 2012;5(1):3–14.
5. Vormann J. Magnesium: nutrition and homeostasis. *AIMS Public Health*. 2016;3(2):329-340.
6. Institute of Medicine Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. *Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride*. Washington, DC: The National Academies Press, 1997.
7. US Department of Health and Human Services and US Department of Agriculture. 2015–2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th edition. 2015. Available online: <https://health.gov/dietaryguidelines/2015/resources/2015-2020-Dietary-Guidelines.pdf>.
8. EFSA Panel on dietetic products, nutrition and allergies. Scientific opinion on dietary reference values for magnesium. *EFSA Journal*. 2015;13(7):4186.
9. Brown B, Wright C. Safety and efficacy of supplements in pregnancy. *Nutrition Reviews*. 2020;78(10):813–826.
10. Altura BM, Altura BT. Importance of ionized magnesium measurements in physiology and medicine and the need for ion-selective electrodes. *J Clin Case Stu*. 2016;1(2).
11. Grober U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in prevention and therapy. *Nutrients*. 2015;7(9):8199-8266.
12. Al Alawi AM, Majoni SW, Falhammar H. Magnesium and human health: Perspectives and research directions. *Int J Endocrinol*. 2018;2018:9041694.
13. Altura BM, Altura BT. Magnesium and cardiovascular biology: an important link between cardiovascular risk factors and atherogenesis. *Cell Mol Biol Res*. 1995;41(5):347-359.
14. Rude R. Magnesium disorders. In: Kokko J, Tannen R, editors. *Fluids and electrolytes*. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1996, p. 421–445.
15. Ferment O, Touitou Y. Magnesium: metabolism and hormonal regulation in different species. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1985;82(4):753–758.
16. Zittermann A. Magnesium deficit? Overlooked cause of low vitamin D status? *BMC Med*. 2013;11:229.
17. Den X, Song Y, Manson JE, Signorello LB, Zhang SM, Shrubsole MJ, et al. Magnesium, vitamin D status and mortality: Results from US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001 to 2006 and NHANES III. *BMC Med*. 2013;11:187
18. Katopodis P, Karteris E, Katopodis KP. Pathophysiology of drug-induced hypomagnesaemia. *Drug Saf*. 2020;43(9):867-880.
19. Wolf F, Torsello A, Fasanella S, Cittadini A. Cell Physiology of Magnesium. *Mol Aspects Med*. 2003;24(1-3):11-26.
20. Rosique-Esteban N, Guasch-Ferre M, Hernandez-Alonso P, Salas-Salvado J. Dietary magnesium and cardiovascular disease: A review with emphasis in epidemiological studies. *Nutrients*. 2018;10(2):168.
21. Rodriguez-Moran M, Simental-Mendia LE, Gamboa-Gomez CI, Guerrero-Romero F. Oral magnesium supplementation and metabolic syndrome: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2018;25(3):261-266.

22. Del Giorno R, Riva H, Donato G, Gabutti L. Ionized and total serum magnesium in hemodialysis: predictors and variability. A longitudinal cross-sectional study. *Clin Exp Nephrol*. 2018;22(3):620-628.
23. Elin RJ. Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy. *Magnes Res*. 2010;23:194-198.
24. Workinger JL, Doyle RP, Bortz J. Challenges in the diagnosis of magnesium status. *Nutrients*. 2018;10(9):1202.
25. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2013;3:1-150.
26. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*. 2002;39(2):S1-S266.
27. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2005;67(6):2089-2100.
28. Levey AS, Inker LA, Coresh J. "Should the definition of CKD be changed to include age-adapted GFR criteria?": Con: the evaluation and management of CKD, not the definition, should be age-adapted. *Kidney Int*. 2020;97(1):37-40.
29. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic kidney disease. *Lancet*. 2017;389(10075):1238-1252.
30. Chen TK, Knicely DH, Grams ME. Chronic kidney disease diagnosis and management: A review. *JAMA*. 2019;322(13):1294-1304.
31. ERA-EDTA Registry. ERA-EDTA Registry Annual Report 2018. Amsterdam: Amsterdam UMC, Department of Medical Informatics, 2020.
32. Gansevoort RT, Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, et al. Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes. A collaborative meta-analysis of general and high-risk population cohorts. *Kidney Int*. 2011;80(1):93-104.
33. Poggio ED, Rule AD. A critical evaluation of chronic kidney disease-should isolated reduced estimated glomerular filtration rate be considered a 'disease'? *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(3):698-700.
34. GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2020;395(10225):709-733.
35. Djukanovic L, Aksic-Milicevic B, Antic M, Bakovic J, Varga Z, Gojakovic B, et al. Epidemiology of end-stage renal disease and hemodialysis treatment in Serbia at the turn of the millennium. *Hemodial Int*. 2012;16(4):517-525.
36. Bao YW, Yuan Y, Chen JH, Lin WQ. Kidney disease models: tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets. *Zool Res*. 2018;39(2):72-86.
37. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine*. 20th edition. New York: McGraw Hill Education, 2018.
38. Mullins LJ, Conway BR, Menzies RI, Denby L, Mullins JJ. Renal disease pathophysiology and treatment: contributions from the rat. *Dis Model Mech*. 2016;9(12):1419-1433.
39. Brenner B, Meyer T, Hostetter T. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: The role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med*. 1982;307:652-659.
40. Humphreys BD. Mechanisms of Renal Fibrosis. *Annu Rev Physiol*. 2018;80:309-326.
41. Ruggenti P, Cravedi P, Remuzzi G. Mechanisms and Treatment of CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23:1917-1928.

42. Fogo AB. Mechanisms of progression of chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(12):2011–2022.
43. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet* 2012;379:165-80.
44. Huang H, Jolly SE, Airy M, Arrigain S, Schold JD, Nally JV, et al. Associations of dysnatremias with mortality in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(7):1204-1210.
45. Hung SC, Lai YS, Kuo KL, Tarng DC. Volume overload and adverse outcomes in chronic kidney disease: clinical observational and animal studies. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(5):e001918.
46. Chan CT, Blankestijn PJ, Dember LM, Gallieni M, Harris DCH, Lok CE, Mehrotra R, Stevens PE, Wang AY, Cheung M, Wheeler DC, Winkelmayer WC, Pollock CA; Conference Participants. Dialysis initiation, modality choice, access, and prescription: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 2019;96(1):37-47.
47. Hrvac̆evic R. Savremene metode dijalize. Drugo izdanje. Beograd: Grafolik, 2012.
48. Ronco C, Clark WR. Haemodialysis membranes. *Nat Rev Nephrol.* 2018;14(6):394-410.
49. Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS. Handbook of Dialysis. 5th edition. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2014.
50. Agarwal AK, Haddad NJ, Vachharajani TJ, Asif A. Innovations in vascular access for hemodialysis. *Kidney Int.* 2019;95(5):1053-1063.
51. Allon M. Vascular access for hemodialysis patients. *CJASN.* 2019,14(6):954-961.
52. Tordoir J, Canaud B, Haage P, Konner K, Basci A, Fouque D, et al. EBPG on vascular access. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;2:88–117.
53. Locatelli F, La Milia V, Violo L, Del Vecchio L, Di Filippo S. Optimizing haemodialysate composition. *Clin Kidney J.* 2015;8(5):580–589.
54. Ashby D, Borman N, Burton, J, Corbett R, Davenport A, Farrington K, et al. Renal association clinical practice guideline on haemodialysis. *BMC Nephrol.* 2019;20:379.
55. Hong WP, Lee YJ. The association of dialysis adequacy, body mass index, and mortality among hemodialysis patients. *BMC Nephrol.* 2019;20:382.
56. Valdivielso JM, Rodriguez-Puyol D, Pascual J, Barrios C, Bermudez-Looez M, Sanchez-Nino MD, et al. Atherosclerosis in chronic kidney disease more, less, or just different? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019;39(10):1938-1966.
57. Olechnowicz-Tietz S, Gluba A, Paradowska A, Banach M, Rysz J. The risk of atherosclerosis in patients with chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol.* 2013; 45:1605–1612.
58. Bover J, Gorriz JL, Urena-Torres P, Lloret MJ, Ruiz-Garcia C, daSilva I, et al. Detection of cardiovascular calcifications: Is it a useful tool for nephrologists? *Nefrologia.* 2016;36(6):587-596.
59. Stevens LA, Li S, Wang C, Huang C, Becker BN, Bomback AS, et al. Prevalence of CKD and comorbid illness in elderly patients in the United States: results from the kidney early evaluation program (KEEP). *Am J Kidney Dis.* 2010;55(3 Suppl 2):S23–S33.
60. Fujii H, Kono K, Nishi S. Characteristics of coronary artery disease in chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* 2019;23:725-732.
61. Di Lullo L, House A, Gorini A, Santoboni A, Russo D, Ronco C. Chronic kidney disease and cardiovascular complications. *Heart Fail Rev.* 2015;20(3):259-272.
62. Shroff GR, Herzog CA. Coronary revascularization in patients with CKD stage 5D: pragmatic considerations. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27:3521–3529.
63. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* 2004;351(13):1296-1305.

64. Saran R, Robinson B, Abbott KC, Agodoa LYC, Bhave N, Bragg-Gresham J, et al. US Renal data system 2018 annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2018;71(3)(suppl 1):Svii,S1-S672.
65. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation.* 2007;116:85–97.
66. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJ, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet.* 2013;382:339–352.
67. Bellasi A, Ferramosca E, Ratti C, Block G, Raggi P. The density of calcified plaques and the volume of calcium predict mortality in hemodialysis patients. *Atherosclerosis.* 2016;250:166-171.
68. Spiegel DM, Farmer B. Long-term effects of magnesium carbonate on coronary artery calcification and bone mineral density in hemodialysis patients: A pilot study. *Hemodial. Int.* 2009;13:453–459.
69. Schlieper G, Schurgers L, Brandenburg V, Reutelingsperger V, Floege J. Vascular calcification in chronic kidney disease: an update. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31:31–39.
70. Kalantar-Zadeh K, Shah A, Duong U, Hecher R, Dukkipati R, Kovesdy CP. Kidney bone disease and mortality in CKD: revisiting the role of vitamin D, calcimimetics, alkaline phosphatase, and minerals. *Kidney Int.* 2010;78(117):S10-S21.
71. Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res.* 2011;109(6):697-711.
72. Cozzolino M, Mangano M, Stucchi A, Ciceri P, Conte F, Galassi A. Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2018;33(3):iii28-iii34.
73. Palit S, Kendrick J. Vascular calcification in chronic kidney disease: role of disordered mineral metabolism. *Curr Pharm Des.* 2014;20(37):5829-5833.
74. Proudfoot D, Skepper J, Hegyi L, Bennett MR, Shanahan CM, Weissberg PL. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro. Evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res.* 2000;87:1055–1062.
75. Lang F, Leibrock C, Pandyrá AA, Stournaras C, Wagner CA, Foller M. Phosphate homeostasis, inflammation and the regulation of FGF-23. *Kidney Blood Press Res.* 2018;43(6):1742-1748.
76. Saengpanit D, Chattranukulchai P, Tumkosit M, Siribumrungwong M, Katavetin P, Sitprija V, et al. Effect of sodium thiosulfate on arterial stiffness in end-stage renal disease patients undergoing chronic hemodialysis (Sodium Thiosulfate-Hemodialysis Study): A randomized controlled trial. *Nephron.* 2018;139(3):219-227.
77. McIntyre CW, Burton JO, Selby NM, Leccisotti L, Korsheed S, Baker CS, et al. Hemodialysis-induced cardiac dysfunction is associated with an acute reduction in global and segmental myocardial blood flow. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(1):19-26.
78. Tok D, Gullu H, Erdogan D, Topcu S, Ciftci O, Yildirim I, et al. Impaired coronary flow reserve in hemodialysis patients: A transthoracic Doppler echocardiographic study. *Nephron Clin Pract.* 2005;101:200–206.
79. Sarnak MJ, Amann K, Bangalore S, Cavalcante JL, Charytan DM, Craig JC, Gill JS, Hlatky MA, Jardine AG, Landmesser U, Newby LK, Herzog CA, Cheung M, Wheeler DC, Winkelmayr WC, Marwick TH; Conference Participants. Chronic Kidney Disease and Coronary Artery Disease: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2019;74(14):1823-1838.
80. Ketteler M, Block GA, Evenepoel P, Fukagawa M, Herzog CA, McCann L, Moe SM, Shroff R, Tonelli MA, Toussaint ND, Vervloet MG, Leonard MB. Executive summary of the

- 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney Int.* 2017;92(1):26-36.
81. Zaid M, Fujiyoshi A, Kadota A, Abbott RD, Miura K. Coronary artery calcium and carotid artery intima media thickness and plaque: clinical use in need of clarification. *J Atheroscler Thromb.* 2017;24(3):227-239.
 82. Lacson E Jr. Serum Magnesium and mortality in hemodialysis patients in the United States: A cohort study. *J Kidney Dis.* 2015;66(6):1056-1066.
 83. Leenders NHJ, van Ittersum FJ, Hoekstra T, Hoenderop JGJ, Vervloet MG. Routine hemodialysis induces a decline in plasma magnesium concentration in most patients: a prospective observational cohort study. *Sci Rep.* 2018;8(1):10256.
 84. Matias J, Azevedo A, Laranjinha I, Navarro D, Mendes M, Ferreira C, et al. Lower serum magnesium is associated with cardiovascular risk factors and mortality in haemodialysis patients. *Blood Purif.* 2014;38:244-252.
 85. Mathew AT, Fishbane S, Obi Y, Kalantar-Zadeh K. Preservation of residual kidney function in hemodialysis patients: reviving an old concept. *Kidney Int.* 2016;90(2):262-271.
 86. Schmaderer C, Braunisch MC, Suttman Y, Lorenz G, Pham D, Haller B, et al. Reduced mortality in maintenance haemodialysis patients on high versus low dialysate magnesium: A pilot study. *Nutrients.* 2017;9(9):926.
 87. Cunningham J, Rodriguez M, Messa P. Magnesium in chronic kidney disease stages 3 and 4 and in dialysis patients. *Clinical Kidney Journal.* 2012;5(1):i39-i51.
 88. Davenport A. New dialysis technology and biocompatible materials. In: Kawanishi H, Takemoto Y, editors. *Scientific Aspects of Dialysis Therapy: JSDT/ISBP Anniversary Edition.* Contrib Nephrol. Basel: Karger; 2017. p. 130-136.
 89. McGill RL, Weiner DE. Dialysate Composition for Hemodialysis: Changes and Changing Risk. *Semin Dial.* 2017;30(2):112-120.
 90. Schmitz M, Loke O, Fach B, Kalb K, Heering PJ, Meinke D, et al. Effects of citrate dialysate in chronic dialysis: a multicentre randomized crossover study. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(8):1327-1334.
 91. Bressendorff I, Hansen D, Schou M, Pasch A, Brandi L. The effect of increasing dialysate magnesium on serum calcification propensity in subjects with end stage kidney disease: A randomized, controlled clinical trial. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(9):1373-1380.
 92. Floege J. Magnesium concentration in dialysate: Is higher better?. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(9):1309-1310.
 93. Kuchle C, Suttman Y, Reichert A, Apfelbock J, Zoller V, Heemann U. Correcting low magnesium in haemodialysis by higher dialysate magnesium. *Cogent medicine.* 2017;1302544.
 94. Massy Z, Drueke T. Magnesium and outcomes in patients with chronic kidney disease: focus on vascular calcification, atherosclerosis and survival. *Clin Kidney J.* 2012;1:52-61.
 95. Montezano AC, Zimmerman D, Yusuf H, Burger D, Chignalia AZ, Wadhwa V, et al. Vascular smooth muscle cell differentiation to an osteogenic phenotype involves TRPM7 modulation by magnesium. *Hypertension.* 2010;56:453-462.
 96. Kircelli F, Peter ME, Sevinc Ok E, Celenk FG, Yilmaz M, Stepan S, et al. Magnesium reduces calcification in bovine vascular smooth muscle cells in a dose-dependent manner. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27(2):514-521.
 97. Ivanovski O, Nikolov IG, Joki N, Caudrillier A, Phan O, Mentaverri R, et al. The calcimimetic R-568 retards uremia-enhanced vascular calcification and atherosclerosis in apolipoprotein E deficient (apoE^{-/-}) mice. *Atherosclerosis.* 2009;205:55-62.

98. De Roij van Zuijdewijn CLM, Grooteman MPC, Bots ML, Blankestijn PJ, Stepan S, Buchel J, et al. Serum magnesium and sudden death in European hemodialysis patients. Seguro AC, ed. PLoS ONE. 2015;10(11):e0143104.
99. Louvet L, Buchel J, Stepan S, Passlick-Deetjen J, Massy ZA. Magnesium prevents phosphate induced calcification in human aortic vascular smooth muscle cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28:869–878.
100. Montes de Oca A, Guerrero F, Martinez-Moreno JM, Madueno JA, Herencia C, Peralta A, et al. Magnesium inhibits Wnt/ β -catenin activity and reverses the osteogenic transformation of vascular smooth muscle cells. *PLoS One*. 2014;9:e89525.
101. Reffelmann T, Ittermann T, Dorr M, Volzke H, Reinthaler M, Petersmann A, et al. Low serum magnesium concentrations predict cardiovascular and all-cause mortality. *Atherosclerosis*. 2011;219:280-284.
102. Turgut F, Kanbay M, Metin MR, Uz E, Akcay A, Covic A. Magnesium supplementation helps to improve carotid intima media thickness in patients on hemodialysis. *Int Urol Nephrol*. 2008;40:1075-1082.
103. Tzanakis I, Virvidakis K, Tsomi A, Mantakas E, Girousis N, Karefyllakis N, et al. Intra- and extracellular magnesium levels and atheromatosis in haemodialysis patients. *Magnes Res*. 2004;17(2):102-108.
104. Hruba A, O'Donnell CJ, Jacques PF, Meigs JB, Hoffmann U, McKeown NM. Magnesium intake is inversely associated with coronary artery calcification: the Framingham Heart Study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7(1):59-69.
105. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al on behalf of ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European Heart Journal*. 2018;39(33):3021-3104.
106. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V, Bailey CJ, Ceriello A, Delgado V, et al. on behalf of ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The Task Force for diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *European Heart Journal*. 2020; 41(2):255–323.
107. Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*. 2018;41(12):2669-2701.
108. Nelson RH. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. *Prim Care*. 2013;40(1):195-211.
109. Lau WL, Obi Y, Kalantar-Zadeh K. Parathyroidectomy in the management of secondary hyperparathyroidism. *CJASN*. 2018;13(6):952-961.
110. Casino FG, Basile C. The variable target model: a paradigm shift in the incremental haemodialysis prescription. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(1):182-190.
111. Perez-Garcia R, Jaldo M, Alcazar R, de Sequera P, Albalade M, Puerta M, et al. Unlike Kt, high Kt/V is associated with greater mortality: The importance of low V. *Nefrologia*. 2019;39(1):58-66.
112. Thomas A, Silver SA, Perl J, Freeman M, Slater JJ, Nash DM, et al. The Frequency of routine blood sampling and patient outcomes among maintenance hemodialysis recipients. *Am J Kidney Dis*. 2020;75(4):471-479.
113. Kidney Disease: Improving Global Outcomes Anemia Work Group. KDIGO clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2012;2:279–335.

114. Millart H, Durlach V, Durlach J. Red blood cell magnesium concentrations: analytical problems and significance. *Magnes Res.* 1995;8:65-76.
115. Abbara S, Blanke P, Maroules CD, Cheezum M, Choi AD, Han BK, et al. SCCT guidelines for the performance and acquisition of coronary computed tomographic angiography: A report of the society of Cardiovascular Computed Tomography Guidelines Committee: Endorsed by the North American Society for Cardiovascular Imaging (NASCI). *J Cardiovasc Comput Tomogr.* 2016;10(6):435-449.
116. Sabarudin A, Sun Z. Beta-blocker administration protocol for prospectively ECG-triggered coronary CT angiography. *World J Cardiol.* 2013;5(12):453-458.
117. Logghe Y, Van Hoe L, Vanhoenacker P, Bladt O, Simons P, Kersschot E, et al. Clinical impact of CT coronary angiography without exclusion of small coronary artery segments: a real-world and long-term study. *Open Heart.* 2020;7(1):e001222.
118. Raff GL, Abidov A, Achenbach S, Berman DS, Boxt LM, Budoff MJ, et al on behalf of Society of Cardiovascular Computed Tomography. SCCT guidelines for the interpretation and reporting of coronary computed tomographic angiography. *J Cardiovasc Comput Tomogr.* 2009;3(2):122-136.
119. Chistiakov DA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Calcifying matrix vesicles and atherosclerosis. *Biomed Res Int.* 2017;2017:7463590.
120. Lee W. General principles of carotid Doppler ultrasonography. *Ultrasonography.* 2014;33(1):11-17.
121. Hwang JY. Doppler ultrasonography of the lower extremity arteries: anatomy and scanning guidelines. *Ultrasonography.* 2017;36(2):111-119.
122. Brkljačić B. *Vaskularni ultrazvuk.* Beograd: Data status, 2010.
123. Hsu S, Rifkin DE, Criqui MH, Suder NC, Garimella P, Ginsberg C, Et al. Relationship of femoral artery ultrasound measures of atherosclerosis with chronic kidney disease. *J Vasc Surg.* 2018;67(6):1855-1863.
124. Molnar AO, Biyani M, Hammond I, Harmon JP, Lavoie S, McCormick B, et al. Lower serum magnesium is associated with vascular calcification in peritoneal dialysis patients: a cross sectional study. *BMC Nephrol.* 2017;18(1):129.
125. Sakaguchi Y, Fujii N, Shoji T, Hayashi T, Rakugi H, Iseki K, et al; Committee of Renal Data Registry of the Japanese Society for Dialysis Therapy. Magnesium modifies the cardiovascular mortality risk associated with hyperphosphatemia in patients undergoing hemodialysis: a cohort study. *PLoS One.* 2014;9(12):e116273.
126. Heierli C, Hill AVL. The relationship between the magnesium concentration in the dialysis fluid used and in the plasma and erythrocytes of patients with chronic renal failure being treated by maintenance haemodialysis. *Clin Sci.* 1972;43:779-787.
127. Rodriguez-Ortiz ME, Canalejo A, Herencia C, Martinez-Moreno JM, Peralta-Ramirez A, Perez-Martinez P, et al. Magnesium modulates parathyroid hormone secretion and upregulates parathyroid receptor expression at moderately low calcium concentration. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29(2):282-289.
128. Talari HR, Zakizade M, Soleimani A, Bahmani F, Ghaderi A, Mirhosseini N, et al. Effects of magnesium supplementation on carotid intima-media thickness and metabolic profiles in diabetic haemodialysis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2019;121(7):809-817.
129. Bressendorff I, Hansen D, Pasch A, Holt SG, Schou M, Brandi L, et al. The effect of increasing dialysate magnesium on calciprotein particles, inflammation and bone markers: post hoc analysis from a randomized controlled clinical trial. *Nephrol Dial Transplant.* 2019;gfz234.
130. Valente MJ, Rocha S, Coimbra S, Catarino C, Rocha-Pereira P, Bronze-da-Rocha E, et al. Long pentraxin 3 as a broader biomarker for multiple risk factors in end-stage renal disease: Association with all-cause mortality. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:3295725.

131. Aoki J, Ikari Y. Cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. *Ann Vasc Dis.* 2017;10(4):327-337.
132. Poli FE, Gulsin GS, McCann GP, Burton JO, Graham-Brown MP. The assessment of coronary artery disease in patients with end-stage renal disease. *Clinical Kidney Journal.* 12(5);2019:721-734.
133. Sun X, Zhuang X, Huo M, Feng P, Zhang S, Zhong X, et al. Serum magnesium and the prevalence of peripheral artery disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis.* 2019;282:196-201.
134. Menez S, Ding N, Grams ME, Lutsey PL, Heiss G, Folsom AR, et al. Serum magnesium, bone-mineral metabolism markers and their interactions with kidney function on subsequent risk of peripheral artery disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Nephrol Dial Transplant.* 2020;35:1878-1885.
135. ter Braake AD, Eelderink C, Zeper LW, Pasch A, Bakker SJL, de Borst MH, et al. Calciprotein particle inhibition explains magnesium-mediated protection against vascular calcification. *Nephrol Dial Transplant.* 2020;35(5):765-773.
136. Mizuiri S, Nishizawa Y, Yamashita K, Naito T, Ono K, Tanji C, et al. Hypomagnesemia is not an independent risk factor for mortality in Japanese maintenance hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2019;51(6):1043-1052.
137. Sakaguchi Y, Hamano T, Nakano C, Obi Y, Matsui I, Kusunoki Y, et al. Association between density of coronary artery calcification and serum magnesium levels among patients with chronic kidney disease. *PLoS One.* 2016;11(9):e0163673.
138. Yorifuji M, Kuragano T, Kawada S, Fukao W, Toyoda K, Nakanishi T. Factors associated with serum magnesium and vascular stiffness in maintenance hemodialysis patients. *Hemodial Int.* 2018;22(3):342-350.
139. Cambray S, Ibarz M, Bermudez-Lopez M, Marti-Antonio M, Bozic M, Fernandez E, et al. Magnesium levels modify the effect of lipid parameters on carotid intima media thickness. *Nutrients.* 2020;12(9):2631.
140. Kurnatowska I, Grzelak P, Stefanczyk L, Nowicki M. Tight relations between coronary calcification and atherosclerotic lesions in the carotid artery in chronic dialysis patients. *Nephrology (Carlton).* 2010;15(2):184-189.
141. Krasniak A, Drozd M, Pasowicz M, Chmiel G, Michalek M, Szumilak D, et al. Factors involved in vascular calcification and atherosclerosis in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(2):515-521.
142. Laclaustra M, Casasnovas JA, Fernandez-Ortiz A, Fuster V, Leon-Latre M, Jimenez-Borreguero LJ, et al. Femoral and carotid subclinical atherosclerosis association with risk factors and coronary calcium: The AWHs Study. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(11):1263-1274.
143. Sakaguchi Y, Fujii N, Shoji T, Hayashi T, Rakugi H, Isaka Y. Hypomagnesemia is a significant predictor of cardiovascular and non-cardiovascular mortality in patients undergoing hemodialysis. *Kidney Int.* 2014;85(1):174-181.

Spisak skraćenica

AVG – arteriovenski graft

AVF - arteriovenska fistula

ADP - adenzin-difosfat

ARB – *angiotensin receptor blockers*, blokatori angiotenzinskih receptora

ATP - adenzin-trifosfat

ACE - *angiotensin converting enzyme*, angiotenzin konvertujući enzim

ACEi - *angiotensin converting enzyme inhibitors*, inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima

BMI – *body mass index*, indeks telesne težine

GLP - *glucagon-like peptide*, glukagonu sličan peptid

DLP – *dose length product*

DNK - deoksiribonukleinska kiselina

DPP4 - dipeptidil-peptidaza 4

DZ – Dom zdravlja

EDTA - *ethylenediaminetetraacetic acid*, etilen-diamid-tetrasirćetna kiselina

EKG - elektrokardiogram

ERA EDTA - *European renal association – European dialysis transplantation association*, Evropska asocijacija nefrologa

EFSA - *European Food Safety Authority*, Evropska komisija za bezbednost hrane

IMZ – intimo-medijalno zadebljanje

JGF – jačina glomerulske filtracije

K – kalijum

KBC - Kliničko-bolnički centar

KV - kardiovaskularni

KVB – kardiovaskularne bolesti

Kg - kilogram

KDIGO - *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*, globalna inicijativa za poboljšanje ishoda bubrežne bolesti

KDOQI - *National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*, Nacionalne fondacije za bubrežne bolesti Sjedinjenih Američkih Država

KPP1 – primarne kalciproteinske partikule

KPP2 – sekundarne kalciproteinske partikule

Kt/V - odnos zapremine plazme koja se očisti od ureje (Kt) i volumena distribucije ureje (V)

LAD - *left anterior descending artery*, prednja descedentna koronarna arterija

LDL - lipoproteini male gustine, low density lipoprotein

LM – *left main*, glavno stablo leve koronarne arterije

m² – kvadratni metar

Mg- magnezijum

Na – natrijum

P – fosfor

PTH - paratiroidni hormon

PCSK9 - proprotein konvertaza subtilizing/keksin tip 9

RAAS – renin-angiotenzin-aldosteron sistem

RCA - *right coronary artery*, desna koronarna arterija

SAD – Sjedinjene Američke Države

SGLT2 - *sodium-glucose transport protein 2 inhibitors*, natrijum-glukoza transportni protein 2

TBI - terminalna bubrežna insuficijencija

TMP - transmembranski pritisak

TRPM - *transient receptor potential melastatin*

URR – urea reduction ratio, jačina redukcije ureje

FGF-23 – fibroblastni faktor rasta 23

FNB - *Food and Nutrition Board at the Institute of Medicine of the National Academy, formerly National Academy of Sciences*

HbA1c – glikozilirani hemoglobin A1c

HBI – hronična bubrežna insuficijencija

HD – hemodijaliza

HDL - *high density lipoprotein*, lipoproteini visoke gustine

HMG-CoA - hidrosimetilglutaril-koenzim A

Ca - kalcijum

CaSR – *calcium- sensing receptor*, kalcijum-osetljivi receptor

CAC - *coronary artery calcification*, kalcifikacije koronarnih arterija

CACS – *coronary artery calcium score*, kalcijumski skor koronarnih arterija

CVK – centralni venski kateter

CDS- color dopler sonografija

CT – kompjuterizovana tomografija

CCTA – *coronary computed tomography angiogram*, kompjuterizovana tomografija koronarografija

Cx - *circumflex coronary artery*, cirkumfleksna koronarna arterija

Biografija

Jovana Kušić Miličević rođena je 14. novembra 1986. godine u Beogradu. Završila je XIII beogradsku gimnaziju kao đak generacije. Na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu diplomirala je 2011. godine sa prosečnom ocenom 9,08. Tokom osnovnih studija učestvovala je na nekoliko internacionalnih Kongresa studenata medicine. Na 21. evropskom studentskom kongresu održanom oktobra 2010. godine u Berlinu (Savezna Republika Nemačka) osvojila je drugo mesto sa radom "*Possibility of immunological reconstitution at HIV+ patients with imunological-virological dissociation*". Avgusta 2009. godine, u okviru studentskog stručnog usavršavanja, učestvovala je na projektu "*Inflammatory markers of endotelial disfunction in patients with diabetes*" tokom kog je boravila je na Institutu za fiziologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta *Autonoma de Coahuila* u Saltilju (Sjedinjene Meksičke Države). Avgusta 2010. godine boravila je mesec dana na stručnom usavršavanju na Klinici za kardiologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta *Cerrapassa* u Istanbulu (Republika Turska).

Od jula 2012. godine zaposlena je u Kliničko-bolničkom centru Zemun na odeljenju nefrologije. Kao stipendista Evropskog udruženja nefrologa (*ERA EDTA*), tokom 2016. godine boravila je 3 meseca na usavršavanju iz oblasti akutne bubrežne slabosti i urgentne hemodijalize u jedinici intenzivnog lečenja *Guy's and St Thomas Hospital* u Londonu (Velika Britanija). Specijalizaciju iz Interne medicine završila je 2021. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu sa odličnim uspehom.

Učestvovala je kao predavač na mnogobrojnim domaćim i međunarodnim skupovima iz oblasti nefrologije, uključujući *54th ERA EDTA* kongres nefrologa održan u Madridu (Republika Španija) 2017. godine sa predavanjem "*Acute kidney injury in critically ill patients requiring extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)*". Objavila je 16 radova (4 kao prvi autor).

Član je Udruženja nefrologa Srbije i Evropskog udruženja nefrologa (*ERA EDTA*). Od 2002. do 2005. godine pohađala je seminar hemije Istraživačke stanice Petnica, nakon čega je u periodu od 2007. do 2011. godine bila saradnik na seminaru Molekularne biomedicine. Bila je vršnjački edukator za HIV/AIDS, učestvovala na domaćim i međunarodnim kongresima za reproduktivno zdravlje. Učestvovala je u obrazovno-naučnom programu „Pravo da znam” koji je emitovan na Radio-televiziji Srbije (RTS) pod pokroviteljstvom UNICEF-a.

Tokom osnovnih studija bila je stipendista Ministarstva nauke i tehnologije Republike Srbije.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Јована Кушић Миличевић

Број индекса 05/12

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Утицај концентрације магнезијума у дијализној течности на развој атеросклерозе болесника на хроничном програму хемодијализе

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 19.07.2021.

Јован Кушић Миличевић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Јована Кушић Миличевић

Број индекса 05/12

Студијски програм Медицинска фармакологија

Наслов рада Утицај концентрације магнезијума у дијализној течности на развој атеросклерозе болесника на хроничном програму хемодијализе

Ментор Проф. др Горлана Драговић Лукић

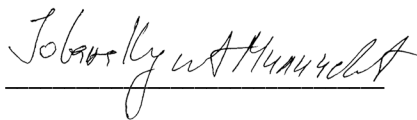
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 19.07.2021.



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Утицај концентрације магнезијума у дијализној течности на развој атеросклерозе болесника на хроничном програму хемодијализе

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 19.07.2021.

