



**UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET
KLINIČKA MEDICINA**

**NIVO HEPCIDINA KOD BOLESNIKA LEČENIH
HRONIČNIM PROGRAMOM HEMODIJALIZE**

doktorska disertacija

Mentor: Prof. dr Tatjana Đurđević Mirković

Kandidat: ass. dr Milica Popović

Novi Sad, 2015. godine

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
НАЗИВ ФАКУЛТЕТА
МЕДИЦИНСКИ
ФАКУЛТЕТ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Milica Popović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	prof. dr Tatjana Đurđević Mirković
Naslov rada: NR	Nivo hepcidina kod bolesnika lečenih hroničnim programom hemodijalize
Jezik publikacije: JP	srpski
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2015
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad, Srbija, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 7/ stranica 147/ slika 12/ tabela 48/ grafikona 29/referenci 190/ priloga 1)
Naučna oblast: NO	medicina
Naučna disciplina: ND	nefrologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Hronična bubrežna bolest; Anemija; Hemodijaliza; Komorbiditet; Hepcidini; Kvalitet
UDK	616.61-78:616.155.194
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	

<p>Izvod: IZ</p>	<p>Hronična bubrežna bolest (HBB) je globalni zdravstveni problem ne toliko zbog svoje masovnosti, koliko zbog hroničnog, progresivnog toka i udrženosti sa značajnim komorbiditetima. Anemija u sklopu HBB povezana je sa smanjenim kvalitetom života, povećanjem kardiovaskularnog morbiditeta, kognitivnim poremećajima, povećanjem broja hospitalizacija i sa povećanim mortalitetom. Incidencija anemije raste sa napredovanjem HBB, tako da u petom stadijumu zahvata gotovo sve obolele. Heparin je centralni regulator metabolizma gvožđa u organizmu, koji može uticati na razvoj i lečenje anemije u sklopu HBB. Cilj istraživanja je bio da se utvrdi nivo hepcidina kod ispitivanih bolesnika, kao i njegova povezanost sa parametrima metabolizma gvožđa, markerima inflamacije i odgovorom na agense za stimulaciju eritropoeze (ESA). Istovremeno smo želeli da utvrdimo koji faktori utiču na nivo hemoglobina u ispitivanoj populaciji, kao i šta utiče na indeks rezistencije na eritropoetin (ERI). U ispitivanje je uključeno 77 bolesnika koji su lečeni hroničnim programom hemodijalize, tokom najmanje tri meseca pre uključivanja u ispitivanje. Ispitanicima je metodom ELISA određen nivo hepcidina u serumu. Ostali ispitivani podaci su dobijeni anamnezom, fizikalnim pregledom, analizom medicinske dokumentacije i standardnim laboratorijskim ispitivanjima. Sprovedenim ispitivanjem smo utvrdili postojanje pozitivne korelacije između serumskog nivoa hepcidina i interleukina-6, dok ostali ispitivani parametri inflamacije nisu korelirali sa nivoom hepcidina. Od parametara metabolizma gvožđa, sa serumskim nivoom hepcidina pozitivno su korelirali nivo gvožđa u serumu, feritin i saturacija transferina, dok je utvrđena negativna korelacija sa transferinom i ukupnim kapacitetom za vezivanje gvožđa. Serumski nivo hepcidina pozitivno je korelirao sa prosečnom nedeljnom dozom ESA. Nije utvrđena korelacija sa ERI, ukupnom dužinom lečenja sa ESA, kao ni sa vrstom ESA. Od svih ispitivanih parametara koji su značajno korelirali sa nivoom hepcidina u serumu, multivarijantna analiza je izdvojila jedino nivo feritina kao signifikantan i nezavisan činilac. Hemoglobin u krvi bolesnika koji su uključeni u ispitivanje nezavisno pozitivno korelira sa vrednostima leukocita i albumina u serumu. Vrednosti ERI u ispitivanoj grupi pozitivno koreliraju sa paratiroidnim hormonom, a negativno sa vrednostima leukocita i indeksom telesne mase.</p>
----------------------	--

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	24.9.2013.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član:

University of Novi Sad
ACIMSI
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PH. D. thesis
Author: AU	Milica Popović
Mentor: MN	prof. dr Tatjana Đurđević Mirković
Title: TI	HEPCIDIN LEVELS IN PATIENTS ON CHRONIC HEMODIALYSIS
Language of text: LT	serbian
Language of abstract: LA	eng. / serbian
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	Parts 7 / pages 147/ pictures 12/ graphs 29 /tables 48/ references 190
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Nephrology
Subject, Key words SKW	Kidney Failure, Chronic; Anemia; Renal Dialysis; Comorbidity; Hepcidins; Quality of Life
UC	616.61-78:616.155.194
Holding data: HD	Library of the Faculty of Medicine, Novi Sad, 21000, Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Note: N	

<p>Abstract: AB</p>	<p>Chronic kidney disease (CKD) is a global health problem not so much because of its massiveness, as a chronic, progressive course and association with significant comorbidities. Anemia associated with the CKD leads to reduced quality of life, increase in cardiovascular morbidity, cognitive impairment, an increase in the number of hospitalizations and increased mortality. The incidence of anemia increases with the progression of CKD, and in the fifth stage affects almost all the patients. Hepcidin is a central regulator of iron metabolism in the body, which may affect the development and treatment of anemia in CKD. The aim of this study was to determine the level of hepcidin in the patients, as well as its association with parameters of iron metabolism, markers of inflammation and response to erythropoiesis-stimulating agents (ESA). Also, we wanted to determine what factors influence the level of hemoglobin in the study population, as well as what affects the erythropoietin resistance index (ERI). The study included 77 patients who were treated with chronic hemodialysis for at least three months prior to inclusion in the study. Serum hepcidin levels were determined by the ELISA procedure. Other test data were obtained by anamnesis, physical examination, analysis of medical history and standard laboratory tests. In our study we have found a positive correlation between serum levels of hepcidin and interleukin-6, while the other parameters of inflammation did not correlate with the level of hepcidin. Serum hepcidin levels were positively correlated values of serum iron, ferritin, transferrin saturation, and negatively correlated with transferrin and total iron binding capacity. Serum hepcidin levels positively correlated with average weekly dose of ESA. There was no correlation with ERI, the total length of treatment with ESA, as well as the type of ESA. Of all the tested parameters that were significantly correlated with the level of hepcidin in serum, multivariate analysis has allocated only ferritin level as a significant and independent factor. The hemoglobin in the blood of the patients involved in the study, positively correlated with the values of the white cell count and serum albumin. ERI values in the study group positively correlated with parathyroid hormone, and negatively with the values of leukocytes and body mass index.</p>
-------------------------	---

Accepted on Scientific Board on: AS	24.9.2013.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: member: member:

1. UVOD

1.1 HRONIČNA BUBREŽNA BOLEST

1.1.1 DEFINICIJA I KLASIFIKACIJA

Hronična bubrežna bolest (HBB) predstavlja globalni zdravstveni problem, ne toliko zbog svoje masovnosti, koliko zbog svog hroničnog i progresivnog toka, uz značajan kardiovaskularni komorbiditet i smrtnost. Definiše se kao oštećenje strukture ili funkcije bubrega, koje traje više od 3 meseca i/ili smanjenje jačine glomerulske filtracije (JGF) ispod 60 ml/min/1,73m². Oštećenje strukture ili funkcije bubrega podrazumeva prisustvo patološkog nalaza urina (mikroalbuminurija, proteinurija, eritrociturija, leukociturija, cilindurija), nenormalnosti otkrivene različitim metodama vizuelizacije (ultrazvuk, rentgen i drugo) ili patohistološkim pregledom (1).

Postoji pet stadijuma hronične bubrežne bolesti (Tabela 1).

Tabela 1 Klasifikacija hronične bubrežne bolesti (1)

STADIJUM	OPIS	JGF ml/min/1,73m ²
1.	Oštećenje bubrežne funkcije sa normalnom ili povećanom JGF	>90
2.	Oštećenje bubrežne funkcije sa blagim smanjenjem JGF	60-89
3A.	Oštećenje bubrežne funkcije sa umerenim smanjenjem JGF	45-59
3B.	Oštećenje bubrežne funkcije sa umerenim smanjenjem JGF	30-44
4.	Oštećenje bubrežne funkcije sa teškim smanjenjem JGF	15-29
5.	Insuficijencija bubrega	< 15

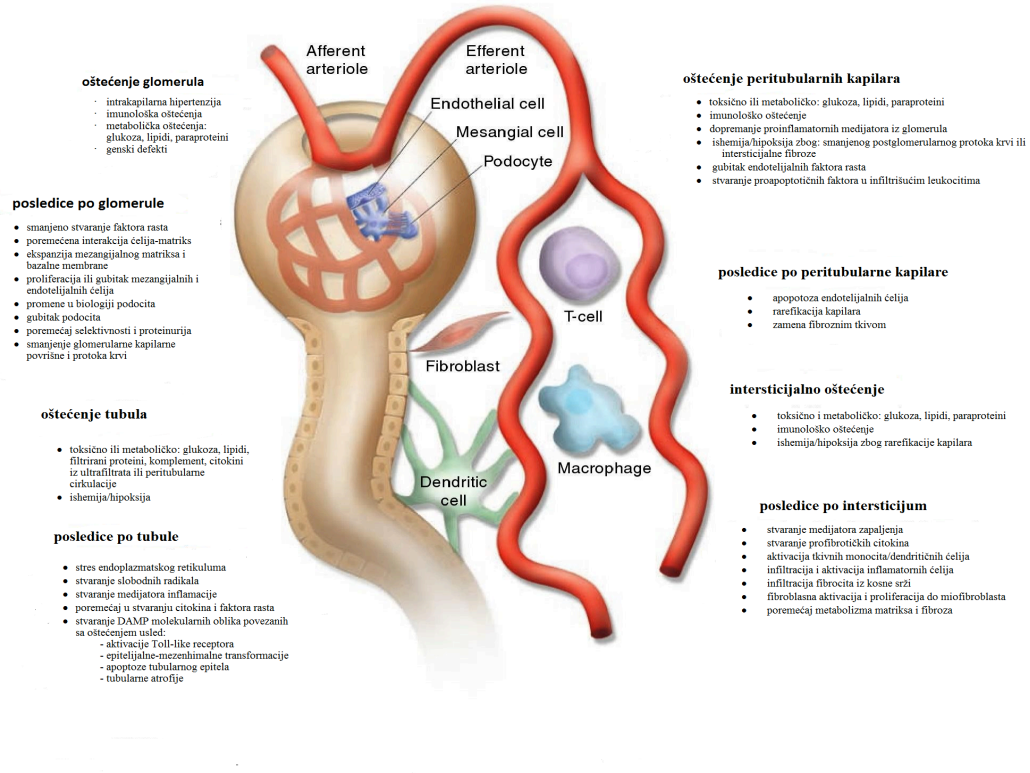
Bubrežna insuficijencija je najozbiljnija posledica HBB, a definiše se kao stanje kada je JGF manja od 15 ml/min/1,73m² ili je zbog ozbiljnosti simptoma neophodno lečenje nekom od metoda zamene bubrežne funkcije (hemodijaliza (HD), peritoneumska dijaliza (PD) ili transplantacija (Tx)).

1.1.2 UZROCI

Patološkim procesom može biti zahvaćena bilo koja od bubrežnih struktura: glomeruli, tubuli, intersticijum ili mreža krvnih sudova (2, 3).

Oštećenje glomerula može nastati kao posledica intrakapilarne hipertenzije, imunoloških procesa, metaboličkih oštećenja pod dejstvom glukoze, lipida i paraproteina ili zbog genetskih defekata. Tubulske strukture stradaju zbog ishemije odnosno hipoksije i zbog toksičnih oštećenja koja izazivaju glukoza, lipidi, filtrirani proteini, komplement, citokini iz ultrafiltrata ili iz peritubularne cirkulacije. Oštećenje peritubularnih kapilara nastaje usled toksičnog dejstva glukoze, lipida ili paraproteina, imunoloških procesa, pod dejstvom proinflammatoryh medijatora iz glomerula i infiltriranih leukocita, smanjenog dopremanja kiseonika zbog intersticijalne fibroze ili smanjenog postglomerularnog protoka krvi, kao i zbog gubitka endotelih faktora rasta. Kao i u ostalim bubrežnim strukturama, oštećenje intersticijuma nastaje usled toksičnog dejstva nekih metabolita, imunološke ozlede ili ishemije (3) Na slici 1 prikazani su faktori koji doprinose progresiji oštećenja bubrega.

Povišen intraglomerularni pritisak rasteže zidove glomerula i direktno oštećuje ćelije, utičući time na selektivnost glomerularnih kapilara. Pod povišenim pritiskom povećava se i proizvodnja angiotenzina II i ekspresija angiotenzin receptora 1 na podocitima. Nezavisno od hemodinamskih efekata koje izaziva, angiotenzin II direktno narušava selektivnost glomerularne bazalne membrane, verovatno preko inhibicije ekspresije nefrina. Gubitak selektivnosti glomerularnih kapilara, bilo da je praćen povišenim ili normalnim krvnim pritiskom u kapilarima, rezultira povećanim sadržajem proteina u glomerularnom filtratu. Pod dejstvom povećanog sadržaja proteina, dolazi do disfunkcije i gubitka podocita. To dalje smanjuje selektivnost glomerularne bazalne membrane i pojave povećane količine proteina u ultrafiltratu. Usled toga dolazi do porasta tubularne rapsorpcije proteina, nakon čega tubularne ćelije otpuštaju različite citokine, hemokine, faktore rasta i vazoaktivne molekule. Pod dejstvom ovih materija, u intersticijumu dolazi do nakupljanja inflamatornih ćelija, kolagena, fibronektina i drugih molekula, koji izazivaju intersticijalnu fibrozu. U tubularnim ćelijama se, osim toga, stvara i komplement, koji, uz komplement koji stiže iz Baumanovog prostora zbog povećane permeabilnosti, dovodi do citotoksičnih, proinflammatoryh i fibrozirajućih promena. Posledica svih ovih procesa je stvaranje ožiljaka u bubrežnom tkivu i smanjenje JGF (4).



Slika 1 Faktori koji doprinose progresiji bolesti bubrega, prema referenci 3

U razvijenim zemljama HBB najčešće je posledica šećerne bolesti, hipertenzije i primarnih glomerulonefritisa, a u znatno manjem procentu nastaje zbog hroničnog intersticijalnog nefritisa, opstrukcije, naslednih ili cističnih bolesti, sekundarnih glomerulonefritisa ili vaskulitisa, neoplazmi i drugih uzroka (5).

U zemljama u razvoju osim navedenih, značajani su i oštećenja glomerula i tubula izazvana infekcijama, kao i zbog izloženosti različitim lekovima i toksinima. (6).

U našoj zemlji, HBB najčešće je posledica primarnih glomerulonefritisa, zatim naslednih cističnih bolesti bubrega, uz oštećenja nastala kao posledica hipertenzije, šećerne bolesti i tubulointersticijumskih nefritisa, uključujući i Balkansku endemsku nefropatiju (2).

Usled svog hroničnog i progresivnog toka, HBB iziskuje dugotrajno i skupo lečenje. Zbog toga se posebna pažnja mora posvetiti merama prevencije, ranom otkrivanju i započinjanju lečenja. U rizične grupe za razvoj HBB spadaju oboleli od šećerne bolesti, hipertenzije i drugih kardiovaskularnih oboljenja, osobe sa multisistemskim oboljenjima, stariji od 60 godina, osobe sa pozitivnom porodičnom anamnezom o bubrežnim bolestima, osobe kod kojih postoji rizik za

opstruktivnu nefropatiju ili kod kojih su korišćeni nefrotoksični lekovi (1). Faktori rizika za razvoj HBB, mogu se, u zavisnosti od toga koliko se na taj faktor može uticati, podeliti na tri velike kategorije koje su date u tabeli 2 (1).

Tabela 2 Podela i definicija faktora rizika za razvoj hronične bubrežne bolesti

FAKTORI	DEFINICIJA	PRIMERI
Povećavaju osetljivost za HBB	Povećavaju osetljivost bubrega na oštećenje	Starost Pozitivna porodična anamneza Neke etničke grupe Siromaštvo Mala porođajna težina Smanjena masa bubrega
Pokreću HBB	Direktno započinju (pokreću) oštećenje bubrega	Dijabetes Hipertenzija Autoimune bolesti Sistemske infekcije Nefrolitijaza Infekcije mokraćnih puteva Opstrukcija mokraćnih puteva Neoplazme Kardiovaskularna oboljenja Toksični lekovi i hemikalije
Ubrzavaju napredovanje HBB	Uzrokuju pogoršanje oštećenja bubrega i ubrzavaju smanjenje funkcije bubrega posle početnog oštećenja	Obilnija proteinurija Neregulisana hipertenzija Neregulisana glikemija Pušenje Gojaznost

Kod osoba sa povećanim rizikom za HBB potrebno je sprovoditi mere prevencije, koje su date u tabeli 3 (2, 7).

Tabela 3 Mere za prevenciju hroničnih bolesti bubrega

- 1) adekvatno lečenje hipertenzije
- 2) regulisanje glikemije
- 3) lečenje dislipidemija
- 4) ograničen unos soli
- 5) prestanak pušenja
- 6) redovna fizička aktivnost
- 7) održavanje normalne telesne težine
- 8) izbegavanje nefrotoksičnih lekova
- 9) redovne godišnje kontrole funkcije bubrega i pregled urina

1.1.3 KLINIČKA SLIKA

Tegobe koje bolesnici imaju u početku bolesti su najčešće nespecifične i nejasno definisane. Zbog toga se može desiti da se bolesnici jave u terminalnoj fazi HBB, a da pre toga nisu ni bili svesni postojanja bubrežnog oboljenja (2).

1.1.3.1. Poremećaj metabolizma vode i elektrolita

Bubrezi su centralni organ koji održava homeostazu vode i elektrolita. Zbog svog velikog uticaja na metabolizam ćelija, promene u metabolizmu elektrolita mogu direktno ili indirektno prouzrokovati brojne simptome koji se sreću kod bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom.

U HBB dolazi do smanjenja sposobnosti bubrega da održavaju homeostazu vode i elektrolita. Sa napredovanjem poremećaja, smanjuje se mogućnost bubrega da se prilagode promenama u unosu vode, jer dolazi do postepenog pada sposobnosti za maksimalnu diluciju i koncentraciju urina, s tim da se diluciona sposobnost bubrega ipak nešto duže održava. U završnom stadijumu bubrežne slabosti osmolalnost urina je oko 300mOsm/L i on je praktično izostenuričan sa plazmom bez obzira na aktuelni unos vode u organizam (8). To se klinički manifestuje pojavom nokturije i poliurije, što je naročito izraženo u tubulointersticijalnim bolestima (9). Bubrezi su u stanju da održavaju homeostazu natrijuma sve dok JGF ne padne ispod 15 ml/min. Kako je natrijum najzastupljeniji ekstracelularni katjon, on je i glavni determinator ukupnog ekstracelularnog volumena tečnosti u organizmu usled čega promene u

homeostazi natrijuma dovode opterećenja vodom ili do njenog nedostatka. Diluciona hiponatremija, odnosno opterećenje vodom, klinički se manifestuje pojavom perifernih edema, edema mozga, arterijske hipertenzije ili srčane insuficijencije i akutnim plućnim edemom (9). Postoje indikacije da hiponatremija može dovesti i do koštanih fraktura i rabdomiolize (8). Hiponatremija se, osim u HBB, javlja i kod kongestivne srčane insuficijencije, ciroze jetre, pneumonije i sindroma stečene imunodeficijencije (8). U HBB obično se ne javlja sve dok JGF ne padne ispod 10 ml/min, te ukoliko se javi pre toga, treba posumnjati na prevelik unos vode, ili na preterano oslobađanje vazoprsina zbog faktora koji nemaju veze sa osmotskim statusom, kao što su bol, neki anestetici ili hipoksija, ili je hiponatremija nastala zbog upotrebe diuretika (9). Hipernatremija u hroničnoj bubrežnoj slabosti je ređa nego hiponatremija. Obično se povezuje sa upotrebom hipertoničnih parenteralnih rastvora, zbog nedovoljnog unosa tečnosti ili je posledica osmotske diureze i neadekvatnog unosa tečnosti u sklopu nekog drugog oboljenja. I kod nekih tubulointersticijalnih bolesti dolazi do gubitka natrijuma i posledične deplecije vode u organizmu (9). Kao posledica hipernatremije može se javiti oštećenje nervnog sistema u vidu osmotskog demijelinizacionog sindroma (8).

Procenjuje se da kalijuma u organizmu ima ukupno 50mmol/kg telesne mase. Kako je to glavni intracelularni katjon, 98% od ukupne količine kalijuma je smešteno unutar ćelije, a samo 2% ukupnog telesnog kalijuma je u ekstracelularnoj tečnosti. Oralno uneti kalijum resorbuje se u tankom crevu, a izlučuje se pretežno bubrezima (90%), dok se ostatak izlučuje preko kolona. Kako je za potpuno izlučivanje kalijuma unetog hranom preko bubrega i kolona potrebno između 6 i 12h, u organizmu su se razvili posebni mehanizmi kojima se omogućava brži prelazak kalijuma između ekstracelularnog i intracelularnog odeljka u organizmu (10). Ulazak kalijuma u ćeliju stimulišu insulin, kateholamini, metabolička acidoza i anabolizam, dok prelazak kalijuma iz ćelije u ekstracelularnu tečnost stimulišu stanje acidoze, hiperosmolalnost plazme, katabolizam i upotreba nekih lekova. Sa padom vrednosti JGF ispod 20% smanjuje se i količina kalijuma izlučena bubrezima (10, 11). Da bi se izbegao nastanak hiperkalijemije, razvili su se različiti adaptivni mehanizmi, koji se odnose na smanjenje unosa kalijuma hranom, povećanu renalnu i ekskreciju preko creva kao i na redistribuciju kalijuma iz ekstracelularnog u intracelularni prostor. Pojačana renalna ekskrecija kalijuma nastaje u glavnom pod uticajem aldosterona na distalne tubule bubrega, ali i zbog dejstva natriuretičnog faktora, dopaminergičkog efekta, tubularnih osmotskih agenasa, hronične metaboličke acidoze i gubitka bikarbonata preko proksimalnih tubula. U uznapredovaloj bubrežnoj bolesti, svoj doprinos sprečavanju

hiperkalijemije daju i creva. Kod ovih bolesnika, pod dejstvom aldosterona, debelo crevo počinje pojačano da eliminiše kalijum kada JGF padne na oko jednu trećinu normalnih vrednosti, a u stanju uznapredovale bubrežne slabosti preko kolona se može izbaciti i do 70% unetog kalijuma. U pojačanu ekskreciju kalijuma uključuje se i tanko crevo, posebno ileum (11). Glavni uzroci hiperkalijemije kod bolesnika na HD su visok unos hranom, upotreba zamena za so koje sadrže kalijum, hipoaldosteronizam, smanjenje JGF, hiperkataboličko stanje, česte transfuzije krvi, metabolička acidoza, smanjenje dijaliznog klirensa i upotreba lekova kao što su cox1 i cox2 inhibitori, inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima, blokatori angiotenzin-1 receptora, β -blokatori, diuretici koji štede kalijum, digoksin, sukcinilholin, ketokonazol, ciklosporin, takrolimus i lekovi koji sadrže kalijum (12). Kliničke manifestacije hiperkalijemije su nespecifične, a često poremećaj može biti i asimptomatski. U slučaju blage do umerene hiperkalijemije, bolesnici se mogu žaliti na mišićnu slabost, umor, pojavu parestezija, palpitacija i srčanih aritmija. Karakteristične promene na elektrokardiogramu (EKG) koje se povezuju sa hiperkalijemijom uključuju pojavu širokog, "šatorastog" T talasa, proširenje QRS kompleksa, progresivan razvoj AV bloka, pojavu sporog idioventrikularnog ritma, ventrikularnu fibrilaciju i u najtežim slučajevima asistoliju. Neuromuskularni poremećaji nastali zbog hiperkalijemije ogledaju se u pojavi parestezija i slabosti koja prvo zahvata ekstremitete, a nakon koje se javlja simetrična mlitava paraliza ekstremiteta koja se širi ascendentno ka trupu i na kraju zahvata i respiratornu muskulaturu. Kranijalni nervi obično nisu zahvaćeni (10). Kod bolesnika na HD hipokalijemija je mnogo ređa nego hiperkalijemija. Obično nastaje zbog smanjenog unosa hranom, malnutricije, hronične dijareje, upotrebe lekova koji stimulišu pojačanu ekskreciju kalijuma crevima, kao što su mineralokortikoidi, ili neadekvatnog korišćenja jonoizmenjivačkih smola. Težina kliničke slike hipokalijemije zavisi od serumskih vrednosti kalijuma. Kod blage hipokalijemije većina bolesnika je asimptomatska ili se žale na blagu mišićnu slabost. Kada su vrednosti kalijuma ispod 3,0 mEq/l dolazi do generalizovane slabosti, a vrednosti ispod 2,5 mEq/l dovode do mišićne nekroze. Sa produblivanjem hipokalijemije dolazi do ascendentne mišićne paralize, respiratorne insuficijencije i srčanog zastoja. Karakteristični znaci za hipokalijemiju na EKG su širok i zaravnjen T talas, depresija ST segmenta, pojava U talasa, produženje QT intervala i pojava ventrikularnih aritmija koje dovode do srčanog zastoja (10).

Održavanje homeostaze kalcijuma i fosfora je od velikog značaja. U regulaciji njihovog metabolizma najvažniju ulogu imaju bubrezi, paratireoidne žlezde i koštani sistem. Sa smanjenjem JGF, u bubrezima se smanjeno stvara aktivna forma vitamina D (13,14). U

fiziološkim uslovima, kalcitriol stimuliše intestinalnu apsorpciju kalcijuma i fosfora, inhibiše stvaranje PTH, α -deluje i na osteoblaste, dovodeći do stvaranja fibroblasnog faktora rasta – 23 (FGF-23), osteoklastogeneze i koštanog prometa. Zbog njegovog nedostatka, javljaju se niske vrednosti kalcijuma u serumu, što stimuliše pojačanu sekreciju parathormona (PTH) (13,14). U isto vreme, usled smanjene bubrežne filtracije, smanjeno je izlučivanje fosfora urinom te nastala hiperfosfatemija i hipokalcemija stimulišu lučenje PTH kao i FGF-23 (14,15). Pod dejstvom PTH dolazi do oslobađanja kalcijuma i fosfora iz kostiju, a zbog smanjenja reapsorpcije fosfora u proksimalnim tubulima pod dejstvom PTH, dolazi do hiperfosfaturije. FGF-23, bilo da je nastao zbog hiperfosfatemije ili pod dejstvom kalcitriola, dovodi do smanjenja tubularne reapsorpcije fosfora odnosno podstiče hiperfosfaturiju, a deluje i na smanjenje aktivnost renalne 1- α hidroksilaze. Zbog smanjene aktivnosti ovog enzima smanjeno je stvaranje kalcitriola, što dovodi do smanjene apsorpcije kalcijuma i fosfora u crevima i indirektno do porasta vrednosti PTH (14,16). U početnim stadijumima HBB, sve dok JGF ne padne ispod 40ml/min, ovi adaptivni mehanizmi sprečavaju nastanak hiperfosfatemije. Sa progresijom bubrežne bolesti, oni postaju nedovoljni, dolazi do hiperfosfatemije, uz povišene vrednosti PTH i FGF-23 u serumu. Hiperfosfatemija doprinosi daljem propadanju bubrežne funkcije, najverovatnije zbog renalne parenhimske kalcifikacije, štetnog dejstva sekundarnog hiperparatireoidizma, hemodinamskih promena i promena u unutarćelijskom energetsom metabolizmu (14). Ovako narušena homeostaza minerala za posledicu ima nastanak renalne koštane bolesti, vaskularnih kalcifikacija i kardiovaskularnih oboljenja (17). Snižene vrednosti kalcijuma u serumu dovode do parestezija, tetanije ili grčeva, hipotenzije, srčane aritmije i srčane slabosti, dok su povišene vrednosti udružene sa pogoršanjem hipertenzije, simptomima od strane centralnog nervnog sistema, ili sa tegobama u vidu mučnine, povraćanja, bolova u truhu i dijareje. Poremećaji u metabolizmu kalcijuma i fosfora mogu dovesti i do pojave dermatoloških tegoba, u vidu svraba, distrofijskih kalcifikacija ili u težim slučajevima kalcifilaksije (18).

Magnezijum je četvrti najzastupljeniji katjon u organizmu koji ima važnu ulogu u brojnim enzimskim reakcijama, transmembranskim transportnim procesima, sintezi proteina i nukleinskih kiselina, u ćelijskoj adheziji i proliferaciji. On je antagonist kalcijuma u mišićnim kontrakcijama. U održavanju homeostaze magnezijuma učestvuju creva, preko kojih se apsorbuje i delimično izlučuje, kosti i mišići u kojima se skladišti i bubrezi, preko kojih se najvećim delom izlučuje. Hipomagnezijemija se u opštoj populaciji javlja kod obolelih od šećerne bolesti, ehroničnih gastrointestinalnih bolesti, alkoholizma, nakon upotrebe određenih lekova, ili kao

rezultat genskih mutacija. Hipomagnezijemija se povezuje sa povišenim rizikom od nastanka dijabetes melitusa tip 2, hipertenzije i ateroskleroze. U početnim stadijumima HBB javljaju se kompenzatorni mehanizmi kojima se serumske vrednosti magnezijuma održavaju u fiziološkim granicama. Sa padom vrednosti kreatinin klirensa ispod 10ml/min, dolazi do hipermagnezijemije. Kod bolesnika na hroničnom programu HD, na vrednosti magnezijuma utiče i sastav dijalizne tečnosti. Hipermagnezijemija ima zaštitni efekat jer sprečava vaskularne kalcifikacije i snižava nivo paratireoidnog hormona. Klinički znaci hipo- i hipermagnezijemije su nespecifični, mogu se preklapati ili nedostajati. Bolesnici se obično žale na gubitak apetita, slabost i malaksalost. Izražena hipomagnezijemija dovodi do promena u ličnosti, grčeva, srčanih aritmija i koronarnog spazma. Hipermagnezijemija se povezuje sa smanjenjem ili gubitkom dubokih tetivnih refleksa, hipotenzijom, ileusom i promenama na EKG. Pri izuzetno visokim ili niskim vrednostima magnezijuma u serumu, mogu se pojaviti neuromišićna disfunkcija, hipotonija, pseudoparaliza, respiratorna deprsija, arefleksija pa čak i koma (19).

1.1.3.2. Poremećaji kardiovaskularnog sistem

Kardiovaskularne bolesti javljaju se već u ranim stadijumima HBB, a kod bolesnika na hroničnom programu HD predstavljaju vodeći uzrok smrtnosti (20, 21). Pored tradicionalnih faktora rizika za nastanak kardio-vaskularnih oboljenja, kao što su hiperlipoproteinemija, hipertenzija, šećerna bolest, pušenje, menopauza, gojaznost i fizička neaktivnost, kod ovih bolesnika javljaju se i faktori rizika povezani sa uremijom. U stanju uremije dolazi do različitih hemodinamskih i metaboličkih poremećaja. Od hemodinamskih poremećaja, faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih oboljenja su anemija, opterećenje volumenom i protok krvi kroz vaskularni pristup za potrebe HD, dok su hipoalbuminemija, hiperhomocisteinemija, oksidativni stres, hronična inflamacija i sekundarni hiperparatireoidizam, metabolički poremećaji koji doprinose nastanku kardiovaskularnih oboljenja (21, 22).

Hipertrofija leve komore prisutna je kod oko 40% bolesnika sa HBB, a u stanju terminalne bubrežne insuficijencije javlja se kod 75% obolelih (23). Kao posledica opterećenja pritiskom, zbog hipertenzije, aortne stenoze i arterioskleroze krvnih sudova, dolazi do remodeliranja zida leve komore, te nastanka njene koncentrične hipertrofije. Sa druge strane, opterećenje volumenom, usled povećanog unosa soli i vode, anemije i povećanog protoka kroz vaskularni pristup za HD, dovodi do ekscentrične hipertrofije leve komore (24). Koncentrična

hipertrofija leve komore utiče na pogoršanje dijastolne funkcije srca, a to se kliničke manifestuje edemom pluća i pojavom hipotenzije u toku dijalize. Sistolna disfunkcija leve komore i kongestivna srčana insuficijencija često se sreću kod bolesnika na HD kod kojih od ranije postoji kardiovaskularni poremećaj, ili značajno opterećenje volumenom. Kod bolesnika bez ranijih kardiovaskularnih poremećaja sistolna funkcija je očuvana ili čak i poboljšana (24). Hipertrofija leve komore udružena je i sa razvojem ishemijske bolesti srca bolesnika na HD (25), a povećan je i rizik od ventrikularnih tahikardija i nastanka iznenadne srčane smrti (26).

Ishemijska bolest srca nastaje usled nesklada između jačine protoka krvi kroz koronarne krvne sudove i metaboličkih potreba miokarda. Ateroskleroza koronarnih arterija je osnovni razlog za pojavu ishemijske bolesti srca. Kod bolesnika na HD razvoju ateroskleroze doprinose i povišen krvni pritisak, poremećaj metabolizma lipida, mikroinflamacija, hiperhomocistinemija, oksidativni stres i sekundarni hiperparatireoidizam (27). Pored ateroskleroze, kod ovih bolesnika do ishemijske bolesti srca dolazi i zbog promena na malim krvnim sudovima i hipertrofije leve komore (28). Kod oko polovine bolesnika na HD akutni koronarni sindrom je asimptomatski, što otežava postavljanje prave dijagnoze kao i adekvatno lečenje (29). Elevacija ST segmenta se ređe registruje kod bolesnika na HD sa akutnim infarktom miokarda nego kod onih koji se ne leče HD, ali je novonastali blok leve grane Hisovog snopa češći (30).

Srčana slabost klinički se manifestuje osećajem nedostatka vazduha, uz znake preopterećenja volumenom, koji se mogu registrovati pri fizikalnom pregledu (otok potkolenica, povišen jugularni venski pritisak, bilateralne bazalne krepitacije nad plućima), i/ili na radiološkom snimku pluća (intersticijalni edem, pulmonalna vaskularna redistribucija) (21). Obično joj prethodi hipertrofija leve komore. Disfunkcija leve komore srca može biti dijastolna i sistolna. Dijastolna disfunkcija je rezultat smanjena komplijanse leve komore, i karakteriše je stanje kada i malo povećanje volumena leve komore dovodi do značajnog povećanja pritiska u levoj komori, uz očuvanu ejectionu frakciju. Sistolna disfunkcija nastaje zbog smanjene kontraktilnosti miokarda leve komore, pa je i ejectiona frakcija leve komore manja od 50% (21, 31). U stanju uremije dolazi do opterećenja leve komore i pritiskom i volumenom. Javlja se fibroza miokarda, kao i smrt kardiomiocita zbog smanjene perfuzije kroz velike i male krvne sudove, hiperparatireoidizma, malnutricije i drugih faktora povezanih sa uremijom, a javljaju se i povećana miokardijalna fibroza (21).

Perikarditis u završnom stadijumu HBB može biti uremijski, ako se javi i pre započinjanja hroničnog programa hemodijalize, povezan sa hemodijalizom, ako se javi 8 nedelja od

započinjanja hemodijalize, ili hronični konstriktivni perikarditis. Uremijski perikarditis je vrlo ozbiljna komplikacija HBB, jer zbog naglo nastalih hemodinamskih poremećaja može dovesti čak i do smrtnog ishoda. Javlja se u završnom stadijumu HBB, a predstavlja zapaljenje parijetalnog i visceralnog lista perikarda. Nastaje kao posledica nakupljanja različitih metaboličkih toksina: uree, kreatinina, metilguanidina, guanidinoacetata i paratireoidnog hormona. U većini slučajeva bolest je asimptomatska, ali se bolesnici mogu žaliti na pojavu bola u grudima koji je izraženiji u ležećem položaju, kao i na osećaj gušenja (32).

Infektivni endokarditis je komplikacija koja se javlja kod oko 20% bolesnika na hroničnom programu HD. Faktori rizika koji pogoduju njegovom nastanku su kalcifikacije srčanih zalistaka, oslabljen imunitet ove populacije bolesnika, kao i učestale punkcije vaskulanog pristupa za HD (33). Na infektivni endokarditis treba posumnjati kod bolesnika kod kojih se naglo javi novootkrivena srčana slabost i hipotenzija u toku HD, naročito kod ranijih hipertoničara, ukoliko su predhodno postojale epizode infektivnog endokarditisa, ili je rađena hirurška intervencija na srčanim valvulama, kod bolesnika sa centralnim venskim kateterom, kod kojih je iz hemokultura izolovan *Staphylococcus aureus*, ili koji imaju relaps bakterijemije nakon prekida antibiotskog lečenja (33, 34).

Poremećaji srčanog ritma su česti kod bolesnika koji se leče HD. Stanje uremije smatra se 'proaritmogenim stanjem', zbog visoke prevalencije hipertrofije leve komore, ishemijske bolesti srca i neuropatije autonomnog nervnog sistema. Sama procedura HD takođe može doprineti nastanku aritmija, jer dovodi do brzih promena u koncentraciji elektrolita, promena pH krvi i telesne temperature, što sve utiče na ekscitabilnost miokarda (35). Najčešći poremećaji srčanog ritma kod bolesnika na HD su: ventrikularna ektopična aktivnost, ventrikularna tahikardija, paroksizmalna supraventrikularna tahikardija i fibrilacija pretkomora (21, 22).

Iznenadna srčana smrt je neočekivana prirodna smrt kardijalnog porekla, koja je nastala iznenada, obično manje od jednog časa od pojave simptoma, kod osoba kod kojih nije postojalo prethodno srčano oboljenje koje bi moglo biti fatalno (36). Srčani zastoje i poremećaji srčanog ritma u vidu ventrikularne tahikardije ili fibrilacije glavni su mehanizmi nastanka iznenadne srčane smrti (37). Faktorima rizika kod bolesnika na HD smatraju se bolesti koronarnih arterija, ali i bolesti ili endotelna disfunkcija na malim krvnim sudovima srca, hipertrofija i poremećena funkcija leve komore, poremećaji elektrolita i acido-bazne ravnoteže, sekundarni hiperparatireoidizam, anemija, hronična inflamacija, hronično opterećenje volumenom, disbalans autonomnog nervnog sistema i intersticijalna fibroza miokarda zbog uremije (36).

Povišen krvni pritisak se javlja kod više od 80% bolesnika u terminalnom stadijumu HBB (38). Kod bolesnika na hroničnom programu HD najčešće je pristuna izolovana sistolna hipertenzija, a u svega 3% bolesnika javlja se izolovana dijastolna hipertenzija (39). Na razvoj hipertenzije utiču brojni etiološki faktori, a najznačajniji su ateroskleroza, povećanje periferne vaskularne rezistencije i operećenje volumenom (38). Hipertenzija je kod bolesnika na HD faktor rizika za nastanak hipertrofije leve komore, srčane slabosti, koronarne arterijske bolesti i poremećaja srčanog ritma (40).

1.1.3.3. Plućne komplikacije

Odnos između pluća i bubrega je od velikog kliničkog značaja, jer, pod normalnim okolnostima, ova dva organa zajedno održavaju acido-baznu ravnotežu u organizmu. Respiratorne promene predstavljaju kompenzatorne mehanizme koji ublažavaju renalne acido-bazne poremećaje i obično se javljaju u roku od nekoliko minuta. Ovako brze promene nastaju zbog brzine kojom se izjednačavaju sastav gasa u plućnim alveolama i u krvi plućnih kapilara. (Pierson DJ) Metabolička acidoza doprinosi plućnoj vazokonstrikciji, sa smanjenjem ventilacione snage, zbog nakupljanja ugljen-dioksida (CO_2) dolazi do centralne neurogene hiperventilacije, kao posledica acidoze dolazi do disocijacije kiseonično-hemoglobinske krive u desno sa olakšanim oslobađanjem kiseonika (O_2) u tkivima, ali se ovaj povoljan efekat neutrališe zbog smanjene sinteze 2,3 diglicerolfosfata (2).

Sa druge strane, za bubrežni odgovor na respiratorne acido-bazne poremećaje obično je potrebno nekoliko dana (41).

Promene u respiratornom sistemu koje se javljaju u HBB najčešće nastaju kao posledica promena u ukupnom volumnom statusu organizma, onkotskom pritisku plazme, metabolizmu minerala, zbog prateće srčane insuficijencije i narušenih funkcije imunološkog sistema (41).

Plućni edem odnosno "uremijska pluća" su najčešća respiratorna komplikacija HBB (42). Može nastati kao posledica prekomerne hidracije, hipoalbuminemije i srčane slabosti. Zbog hipoalbuminemije, dolazi do pada u vrednostima onkotskog pritiska, što za posledicu ima izlazak tečnosti iz plućnih kapilara. Kao posledica povišenog hidrostatskog pritiska u kongestivnoj srčanoj slabosti, takođe dolazi do isticanja tečnosti iz kapilara. Takva edemska tečnost je po svom sastavu transudat. Međutim, kako su neka istraživanja dokazala da edemska tečnost može biti

bogata proteinima, u vezu sa nastankom plućnog edema dovode se i poremećaji u kapilarnoj permeabilnosti. Uremijska pluća na rentgenskom snimku podsećaju na "krila leptira" ili "slepeg miša", a ispitivanja plućne funkcije ukazuju na mešoviti restriktivno-opstruktivni poremećaj (41).

Efuzija pleure je takođe česta pojava kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom bolešću. Efuziona tečnost je po svom sastavu transudat, ako nastaje zbog hipervolemije ili kongestivne srčane slabosti, ili eksudat, ako je posledica inflamacije i tada se nazima "uremijski pleuritis". Ovakav izliv može biti dosta velik, bilateralan i često hemoragičan. Većina bolesnika nema značajnijih kliničkih simptoma, ali se mogu žaliti i na dispneu, povišenu telesnu temperaturu i bolove. Izliv se obično spontano povlači tokom nekoliko nedelja, a može se komplikovati nastankom fibrotoraksa koji zahteva hiruršku intervenciju (42).

Bolesnici na hroničnom programu HD imaju nekoliko puta veći rizik za nastanak tuberkuloze pluća u poređenju sa opštom populacijom, jer su imunokompromitovani (43). Klinički tok bolesti je obično podmukao i nespecifičan, maskirajući se kliničkom slikom uremije (42).

Pluća su mesto gde se najčešće javljaju tkivne kalcifikacije kod odraslih osoba sa HBB. Nastanak kalcifikacija dovodi se u vezu sa terapijom vitaminom D i njegovim analogima, pH vrednostima krvi, kao i sa vrednostima prozivoda serumskog kalcijuma i fosfora. Faktor rizika je i muški pol, kao i vreme nastanka bubrežne slabosti. Plućne kalcifikacije su obično asimptomatske (42).

Hipoksemija udružena sa HD nastaje kao posledica difuzije CO₂ u dijalizat, što dovodi do pada vrednosti parcijalnog pritiska CO₂ u venskoj krvi. Ovu promenu registuju centralni i periferni hemoreceptori, te da bi se održao normalan parcijalni pritisak CO₂, dolazi do smanjenja minutne ventilacije. Sa smanjenjem alveolarne ventilacije, dolazi i do smanjenja parcijalnog pritiska O₂ u krvi odnosno hipoksemije (41).

1.1.3.4. Hematološki poremećaji

Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji, anemija se definiše kao nivo hemoglobina (Hb) niži od 13 g/dL kod odraslih muškaraca i žena nakon generativnog perioda, i niži od 12 g/dL kod žena u generativnom periodu (44). Anemija je česta komplikacija HBB, koja dovodi do smanjenja kvaliteta života i porasta kardiovaskularnih bolesti, kognitivnih poremećaja, broja hospitalizacija i mortaliteta (45). Sa napredovanjem bubrežne bolesti raste i incidenca anemije, pa

se procenjuje da u 5 stadijumu zahvata gotovo sve bolesnike (45). Anemija se klinički manifestuje bleedom, osećajem umora, nepodnošenjem fizičkog napora i hladnoće, subjektivnim osećajem nedostatka vazduha, pojavom tahikardije i pogoršanjem simptoma angine pektoris, promenama u ponašanju, smanjenjem libida i neregularnim menstruacijama (46, 47).

U inicijalnoj evaluaciji anemije koja se javlja u sklopu HBB najznačajniji su sledeći testovi (48):

- kompletna krvna slika (sa ukupnim brojem eritrocita, eriocitnim pokazateljima (srednji volumen eritrocita(MCV), srednja vrednost hemoglobina u jednom eritrocitu (MCH) i srednja vrednost koncentracije hemoglobina u eritrocitu (MCHC)), hemoglobinom, hematokritom, ukupna i diferencijalna bela loza, ukupan broj trombocita)
- apsolutni broj retikulocita
- serumski nivo feritina
- serumska saturacija transferina
- serumski nivo vitamina B₁₂ i folne kiseline

Anemija u sklopu HBB tipično je normocitna, normohromna i hipoproliferativna. U osnovi ove anemije su brojni faktori, a najvažnijim se smatra nedostatak eritropoetina (49). Eritropoetin je hormon koji se predominantno stvara u kortikalnim peritubularnm fibroblastima bubrega, (50) kao odgovor na hipoksiju, posredstvom hipoksijom indukovano faktora (HIF, od Hypoxia inducible factor) (47, 50). Ovaj hormon ima važnu ulogu u preživljavanju, proliferaciji i diferencijaciji eritroidnih progenitornih ćelija u kosnoj srži, naročito ranih opredeljenih matičnih ćelija za eritrocitnu lozu (BFU-E od Burst-Forming Units- Erythroid) i poznih opredeljenih matičnih ćelija za eritrocitnu lozu (CFU-E od Colony-Forming Units- Erythroid). U njegovom nedostatku dolazi do pre-programirane apoptoze eriocitnih prekurzora. Zbog kontinuiranog gubitka prekurzora i smanjenog stvaranja eritrocita dolazi do pogoršanja anemije (47). Kod obolelih od HBB nivo eritropoetina je normalan ili čak blago povišen, ali ipak neadekvatan u odnosu na stepen anemije, jer su ispitivanja pokazala da je kod bolesnika sa istim stepenom anemije a bez bubrežne bolesti nivo eritropoetina 10 do 100 puta veći (49). Inflammatory citokini, posebno interferon- γ i faktor nekroze tumora $-\beta$, koji su povišeni u uremiji, delujuću direktno na CFU-E i preko smanjenja produkcije eritropoetina imaju inhibitorno dejstvo na proliferaciju i diferencijaciju eritrocitnih prekurzora (47, 51).

Doprinos nastanku anemije daju i cirkulišući inhibitori eritropoeze povezani sa uremijom. Pretpostavlja se da supresiju kosne srži izaziva nakupljanje srednjih molekula, molekulske mase od 500 do 2000 Da (47), ali za sada ni jedan specifični inhibitor nije identifikovan (49).

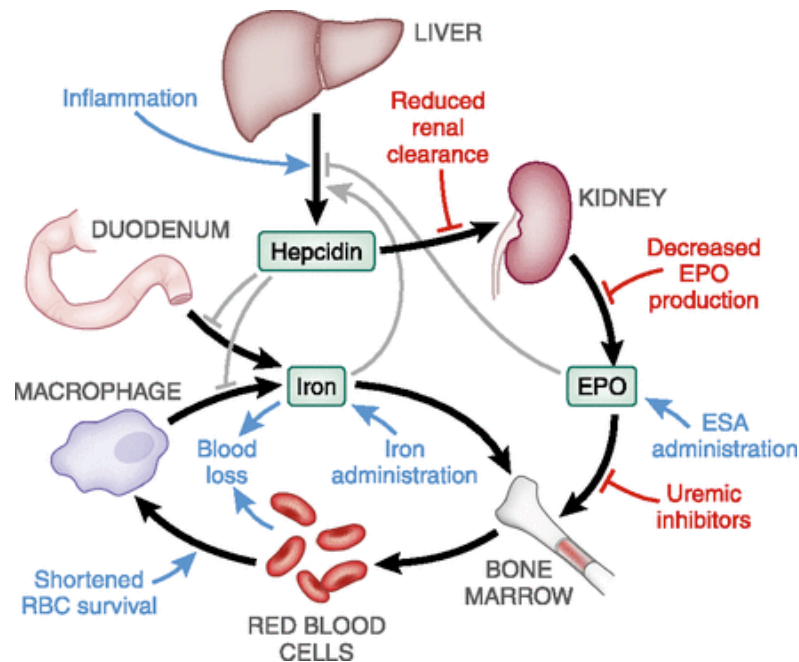
Eritrociti obolelih od HBB imaju skraćen životni vek, od samo 60 do 90 dana, dok je životni vek eritrocita kod zdravih osoba oko 120 dana (47). Smatra se da tome doprinose različiti metabolički i mehanički faktori (49).

Deficit različitih gradivnih materija, kao što su folna kiselina i vitamin B₁₂, koji nastaju usled anorkesije ili zbog gubitka tokom HD takođe mogu doprineti razvoju anemije kod bubrežnih bolesnika (49).

Veliki značaj nastanku anemije pridaje se poremećajima u metabolizmu gvožđa (49). Bolesnici sa HBB imaju povećan gubitak gvožđa iz organizma. To može biti posledica učestalog krvarenja zbog disfunkcije trombocita u uremiji, zbog čestog vađenja krvi radi medicinskih testiranja, zbog gubitaka krvi tokom same procedure HD: krvarenje prilikom uboda ili vađenja igala iz vaskularnog pristupa, zgrušavanje krvi u ekstrakorporalnom sistemu za hemodijalizu ili infiltracije krvlju vaskularnog pristupa za hemodijalizu. Unos gvožđa može biti smanjen zbog gubitka apetita za hranu bogatu gvoždem ili zbog smanjenog unosa proteina (47). Dokazana je i smanjena apsorpcija gvožđa unetog hranom, što je naročito izraženo kod bolesnika na HD (49). Potrošnja gvožđa može biti povećana nakon uvođenja u terapiju agenasa koji stimulišu eritropoezu, što rezultira smanjenjem rezervi i cirkulišućeg gvožđa u organizmu (49). Kod bolesnika sa HBB može se sresti apsolutni i funkcionalni nedostatak gvožđa. Apsolutni nedostatak gvožđa nastaje kada su niske telesne rezerve gvožđa, odnosno niske su vrednosti feritina, uz nizak procenat saturacije transferina koji je pokazatelj cirkulišućeg gvožđa. Funkcionalni deficit gvožđa nastaje kada su telesne rezerve dobro popunjene, vrednosti feritina normalne ili povišene, a saturacija transferina niska. Tada postoji blokada gvožđa u retikuloendotelijalnim ćelijama, i potrebe kosne srži za gvoždem zbog eritropoeze ne mogu biti zadovoljene (47,49).

Hepcidin je mali protein koji se stvara u jetri i za koga se smatra da ima centralnu ulogu u održavanju homeostaze gvožđa (51,52, 53). Hepcidin ostvaruje svoje dejstvo tako što se vezuje za ferroportin, nakon čega dolazi do degradacije nastalog kompleksa. Ferroportin se nalazi na duodenalnim enterocitima, ćelijama jetre i retikuloendotelijalnim makrofazima i neophodan je za izlazak gvožđa iz ćelije. Na nivo hepcidina utiču telesne rezerve gvožđa, inflamacija i stanje hipoksije odnosno anemija (slika 2) (54). Novija istraživanja ukazuju na mogućnost da je

hepcidin odgovoran za poremećenu apsorpciju gvožđa unetog hranom, kao i za blokadu gvožđa u retikuloendotelijalnim ćelijama (49).



Slika 2 Uloga hepcidina u metabolizmu gvožđa, prema referenci 49

Hipoproliferativna anemija može biti dodatno pogoršana zbog fibrozne osteodistrofije, koja nastaje u sklopu sekundarnog hiperparatireoidizma. Visoke vrednosti parathormona utiču na smanjenje stvaranja eritropoetina, utiču na fragilnost eritrocitne membrane, suprimirane su matične ćelije opredeljene za eritrocitnu lozu u kosnoj srži, a nedostatak aktivne forme vitamina D takođe utiče na proliferaciju i maturaciju eritrocitnih prekurzora (55).

Uticaj na anemiju imaju različite gupe lekova. Poseban značaj se pridaje inhibitorima angiotenzin konvertujućeg enzima. Ispitivanja su pokazala da angiotenzin II deluje stimulatивно na sekreciju eritropoetina, ali na eritropoezu utiče i delujući na eritrocitne prekurzore u kosnoj srži. Delujući na nastanak i vezivanje angiotenzina II za receptor 1, inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima i blokatori receptora za angiotenzin 1 doprinose nastanku i pogoršanju anemije (56). AcSDKP je peptid od 4 aminokiseline, koji nastaje degradacijom timozina β_4 i koji sprečava aktivnu proliferaciju ranih progenitornih ćelija hematopoeze. Degradacijom AcSDKP pod dejstvom angiotenzin konvertujućeg enzima, podstiče se prelazak matičnih ćelija u S fazu ćelijskog ciklusa. Kako nakon primene inhibitora angiotenzin konvertujućeg enzima dolazi do

nakupljanja AcSDKP, smanjuje se i eritropoeza (57). Lekovi iz grupe imunosupresiva, koji se primenjuju u lečenju nekih bubrežnih bolesti, kao i kod bolesnika sa transplantiranim bubregom, utiču na anemiju. Antiproliferativni agenti Azathioprin i Mycophenolat mofetil imaju direktno antiproliferativno dejstvo na ćelije kosne srži. Kod bolesnika lečenih Sirolimusom može nastati mikrocitna anemija i hemoliza. Upotreba Cyclosporina A takođe se povezuje sa nastankom hemolitičke anemije i hemolitičko-uremijskim sindromom. Biološki angensi, mono- i poliklonska antitela, kao što je antitimocitni globulin, ispoljavaju toksično dejstvo na ćelije kosne srži i mogu doprineti nastanku anemije (58).

Infekcije su značajan uzrok morbiditeta i mortaliteta bolesnika na hroničnom programu HD. U stanju uznapredovale bubrne bolesti dolazi do oštećenja funkcije neutrofilnih granulocita, koji su glavni činioci odbrane organizma od bakterijskih i gljivičnih infekcija. Do slabljenja njihove funkcije dolazi iz dva različita razloga: smanjenja ukupnog broja neutrofila i disfunkcije u njihovim metaboličkim putevima. Od istorijskog značaja su podaci da prilikom upotrebe bioinkompatibilnih, kuprofonskih, dijaliznih membrana dolazi do prolaznog smanjenja ukupnog broja neutrofilnih granulocita, zbog njihove sekvestracije u plućima tokom HD. Savremene biokompatibilne dijalizne membrane, koje ne dovode do aktivacije komplementa, ne utiču na aktivaciju neutrofila. Disfunkcija neutrofila manifestuje se poremećajem adhezije za endotel, smanjenim stvaranjem kiseoničnih radikala, poremećenim oslobađanjem mikrobicidnih enzima i poremećenim metabolizmom ugljenih hidrata unutar neutrofila. Kao mogući faktori rizika za nastanak ovih poremećaja navode se opterećenje gvožđem i upotreba parenteralnih preparata gvožđa, anemija koja se javlja u sklopu bubrežnog oboljenja, povećan sadržaj kalcijuma u citosolu neutrofila, prisustvo uremijskih toksina, smanjen sadržaj antioksidativnih enzima u neutrofilima usled same dijalizne procedure, kao i vreme od započinjanja lečenja HD. Klinički se infekcije kod bolesnika u terminalnom stadijumu bubrežne slabosti najčešće manifestuju pojavom septikemije. Najčešći uzročnici septikemije u ovoj populaciji bolesnika su Gram pozitivne bakterije grupe stafilokoka, i to najčešće *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. Pored smanjenog imuniteta koji postoji kod ovih bolesnika, oni su septikemiji podložniji jer se obično radi o populaciji starijih bolesnika, sa prisutnim komorbiditetima kao što su diabetes melitus ili malnutricija. Osim toga, bolesnici su skloni bakterijskim infekcijama zbog prisustva vaskularnog pristupa za potrebe HD. Pri tome su infekcije najčešće kod bolesnika sa prisustvom centralnog venskog katetera za HD, zatim kod onih sa arterio-venskom graft fistulom, a najređe

se javljaju kod bolesnika sa arterio-venskom fistulom. I ponovna upotreba setova za dijalizu predstavlja faktor rizika za nastanak infekcije (59).

Poremećaji sistema za koagulaciju koji se javljaju kod bolesnika sa HBB manifestuju se u dva oblika. Može postojati sklonost ka krvarenju, ili dolazi do razvoja tromboze (60, 61).

Skлонost ka krvarenju može se ispoljiti na različitim mestima. Krvarenje u koži dovodi do lakog nastajanja hematoma, purpura, petehija ili produženog krvarenja nakon venepunkcije. Krvarenja na sluznicama manifestuje se pojavom epistaksi, krvarenja desni ili drugih delova gastrointestinalne sluznice, kao i krvarenjem genitalne sluznice, a može doći i do pojave hematurije. Jedna od komplikacija je i retinalna hemoragija. Javlja se i hemartroza, odnosno krvarenje u zglobove (60). Pleuralni ili perikardijalni izlivi mogu postati hemoragični, a intrakranijalnom krvarenju naročito su skloni bolesnici na HD sa neregulisanom hipertenzijom (61).

Hemoragičnoj dijatezi kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom bolešću najviše doprinose disfunkcija trombocita, poremećaji interakcije između trombocita i zida krvnog suda, anemija, upotreba nekih lekova i sama hemodijalizna procedura (60). Kod zdravih osoba, nakon aktivacije trombocita dolazi do sekrecije iz njihovih α -granula i oslobađanja adenzindifosfata (ADP) i serotonina. To dovodi do privlačenja novih trombocita na mesto vakularnog oštećenja i njihove aktivacije pod dejstvom ADP-a, kao i do povećanog vezivanja fibrinogena i trombospondina na površinu trombocita, pod dejstvom serotonina. Kod bolesnika u uremiji, smanjen je sadržaj ADP i serotonina u granulama, a smanjeno je i oslobađanje adenzintrifosfata (ATP) kao odgovor na trombin. Ciklični adenzinmonofosfat (cAMP) koji izaziva disfunkciju trombocita, jer utiče na mobilizaciju kalcijuma, je povišen u stanju uremije, a smanjeno je oslobađanje tromboksana A₂ iz trombocita pod dejstvom ADP, kolagena, trombina i arahidonske kiseline. Aktivacija trombocita je poremećena zbog disbalansa između trombocitnih agonista, ADP i serotonina, i trombocitnog inhibitora cAMP. Samatra se da ova neravnoteža nastaje zbog nakupljanja uremijskih toksina, metaboličkih poremećaja i aktivacije različitih proteolitičkih sistema, kao što su koagulaciona kaskada i fibrinoliza. Zbog ponavljanih hemodijaliznih procedura i kontakata sa dijaliznom membranom, može doći do učestale aktivacije trombocita, što za posledicu može imati poremećaj sekrecije trombocitnih granula. Osim sekretornih poremećaja, kod bolesnika u uremiji dolazi i do promena na citoskeletu trombocita, što smanjuje njihovu kontraktilnost, mobilnost i sekretornu aktivnost (61). Kod zdravih osoba, nakon kontakta trombocita sa zidom krvnog suda dolazi do njihove adhezije, aktivacije i agregacije da bi nastao

koagulum. Adheziju trombocita započinje von Willebrand-ov faktor (vWF) koji se, u saradnji sa kolagenom, vezuje za glikoprotein GP 1b/V/IX sa površine trombocita. To aktivira drugi glikoprotein, GP IIb/IIIa, koji vezuje fibrinogen. Ovo vezivanje vWF i fibrinogena za GP IIb/IIIa je smanjeno kod bolesnika u uremiji, dovodeći do smanjene adhezije trombocita za subendotelijum. Na smanjenje funkcije trombocita utiču i prostaciklin (PGI_2) koga luče endotelne ćelije i azotni oksid (NO). Povišene vrednosti PGI_2 i NO sreću se kod bolesnika sa uznapređovalom bubrežnom bolešću. Anemija utiče na funkciju trombocita na nekoliko načina. Cirkulišući eritrociti potiskuju trombocite ka zidu krvnog suda, što ubrzava njihov kontakt sa subendotelijumom na mestu oštećenja. Osim toga, eritrociti poboljšavaju funkciju trombocita tako to oslobađaju ADP i inaktivišu PGI_2 . Supstitucija eritropoetinom bolesnika sa uznapređovalom bubrežnom bolešću doprinosi poboljšanju funkcije trombocita tako što se koriguje anemija, ali eritropetin ima i direktan efekat, jer povećava broj GP IIb/IIIa receptora na površini trombocita i poboljšava fosforilaciju trombocitnih proteina koju izaziva trombin (61). β -laktamski antibiotici utiču na funkciju trombocita dejstvom na ADP receptore na njihovoj membrani, dovodeći do poremećene agregacije trombocita. Aspirin značajnije produžuje vreme krvarenja kod bolesnika sa bubrežnom slabošću, u poređenju sa bolesnicima sa očuvanom bubrežnom funkcijom. Na zgušavanje krvi mogu uticati i antikoagulantni lekovi poput niskomolekularnog heparina (LMWH), direktnih inhibitora faktora Xa i direktnih inhibitora trombina, a koji se akumuliraju kod bolesnika sa smanjenom bubrežnom funkcijom (60). Procedurom HD iz krvi se eliminišu toksini kao što su urea, kreatinin, fenol, fenolna kiselina i guanidinosukcinilna kiselina, a koji doprinose oštećenju funkcije trombocita. Na taj način HD smanjuje rizik od krvarenja. Pored toga, kao posledica aktivacije komplementa, zbog kontakta krvi sa bioinkompatibilnom hemodijaliznom membranom, može doći do smanjenja ukupnog broja trombocita, a zbog njihove stalne aktivacije, do degranulacije i gubitka glikoproteinskih receptora, što za posledicu ima povećanu sklonost ka krvarenju. Krajni efekat je ipak smanjenje trombocitne reaktivnosti nakon dijalize, najverovatnije zbog eliminacije toksina koji su dijalizabilni (61).

Tromboza se klinički manifestuje dubokim venskim trombozama, plućnom tromboembolijom, trombozom vaskularnog akscesa i dvolumenskog katetera za potrebe HD, trombozom centralnih vena ili desne predkomore srca, akutnim koronarnim sindromom, cerebrovaskularnim incidentima ili okluzijom perifernih arterija (60). Povećanom riziku od tromboze doprinose poremećaji na nivou koagulacione kaskade, poremećaji trombocita, promene

na endotelijumu, mikropartikule i antifosfolipidna antitela. Hiperkoagulabilnosti doprinose povišene vrednosti fibrinogena, tkivnog faktora, faktora XIIa i VIIa i aktivisanog kompleksa proteina C, koje se sreću kod bolesnika sa bubrežnom slabošću. Aktivnost antitrombina je smanjena kod ovih bolesnika. Aktivacija sistema renin-angiotenzin-aldosteron, do koje dolazi zbog povišenih vrednosti fibrinogena, D-dimera i inhibitora plazminogen-aktivatora -1 (PAI-1), takođe može uticati na povećanu koagulnost krvi (60). Agregabilnost trombocita bolesnika u uremiji može biti povećana zbog smanjene količine azot-monoksida koja se sreće u stanju katabolizma. U uremiji su povišene vrednosti fosfatidil serina, koje utiču na formiranje trombina, kao i p-selektina i receptora za fibrinogen PAC-1 koji pospešuju agregaciju trombocita i leukocita. Veza između trombocita i leukocita dovodi do povećane reaktivnosti trombocita ali i do stvaranja slobodnih kiseoničnih radikala u polimorfonuklearnim granulocitima, što sve pospešuje stvaranje tromba. Čelije endotelijuma bolesnika sa bubrežnom bolešću mogu biti oštećene. Kao mogući medijator između ćelijskog oštećenja i renalne disfunkcije navodi se homocistein. Rizik za nastanak venskog tromboembolizma povećava i ateroskleroza, koja kod bolesnika sa bubrežnom bolešću može dovesti do aktivacije trombocita i koagulacione kaskade (60). Mikropartikule su elementi koji su nedavno otkriveni, a koji mogu imati važnu ulogu u nastanku prokoagulantnog stanja. One nastaju od delova membrane mnogih ćelija, uključujući endotelne ćelije, trombocite, monocite i makrofage. Zbog prisustva tkivnog faktora na njihovoj površini, kao i prezentacije fosfatidilserina koji ubrzava pretvaranje protrombina u trombin, ispoljavaju prokoagulantno dejstvo. Moguće je da mikropartikule ostvaruju svoje dejstvo i preko mikro RNA (miRNA), verovatno tako što utiču na funkciju trombocita. Antifosfolipidna antitela, uključujući lupus antikaogulans i kardiolipinska antitela, mogu se sresti kod velikog broja bolesnika na HD. Ona predstavljaju rizik za nastanak tromboze, posebno tromboze vaskularnog pristupa za potrebe HD (60).

1.1.3.5. Gastrointestinalni poremećaji

Gastrointestinalni poremećaji su značajan faktor morbiditeta i mortaliteta kod bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom. U početku, tegobe su nespecifične i obuhvataju anoreksiju, mučninu, povraćanje, štućanje i dijareju, sa progresivnim mršavljenjem bolesnika.

Oralne lezije bolesnik sa HBB naročito su izražene ako su oboleli i od šećerne bolesti. Obično je prisutan uremijski fetor, praćen neprijatnim osećajem u ustima. Zadah nastaje zbog

visoke koncentracije uree u pljuvački i njenog pretvaranja u amonijak, a kao mogući uzroci spominju se i visok sadržaj fosfata i proteina, sa izmenjenim pH pljuvačke, što može dovesti i do neprijatnog, metalnog osećaja u ustima. Xerostomia ili suva usta verovatno nastaju zbog smanjenog unosa vode, smanjenog stvaranja pljuvačke zbog atrofije i fibrozne izmenjenosti pljuvačnih žlezda, disanja na usta ili upotrebe nekih lekova. Zbog gubitka zaštitnog dejstva pljuvačke dolazi do učestalih gljivičnih i bakterijskih infekcija u usnoj duplji, zubnog karijesa i periodontalnih bolesti, a bolesnici se žale i na gubitak osećaja ukusa. Česte su i suve, ispucale usne. Javljaju se i promene u izgledu sluznice usne duplje. Tako se može javiti bledilo, koje je najverovatnije posledica anemije koja se javlja u HBB, ili žućkasta prebojenost zbog nakupljanja uremijskih toksina. Uremijski stomatitis i oralne ulceracije takođe se sreću kod bolesnika sa HBB. Zbog pomećene funkcije trombocita, kao i upotrebe heparina i drugih antikoagulantnih lekova, mogu se sresti i znaci krvarenja u usnoj duplji, u vidu ekhimoza i petehija. Javljaju se i promene na jeziku, u vidu beličaste prebojenosti, ili zaglađenog jezika (62).

Mučnina i povraćanje su učestali kod bolesnika sa HBB, kao i kod onih na hroničnom programu HD. Obično su povezane sa usporenim pražnjenjem želudačnog sadržaja. Promene na gastro-duodenalnoj sluzokoži manifestuju se u vidu eritema, petehija i erozija, a jedna od redih promena koje se javljaju kod bolesnika u uremiji je i heterotopična kalcifikacija želudačne sluznice, koja se verovatno javlja u sklopu sekundarnog hiperparatireoidizma (63). Krvarenje iz gornjih delova gastrointestinalnog trakta je česta i potencijalno vrlo opasna komplikacija hronične bubrežne slabosti. Takođe, učestaliji su i recidivi krvarenja. Uzroci krvarenja slični su kao i kod osoba sa normalnom renalnom funkcijom, a uključuju ulkuse na želucu i dvanaestopalačnom crevu, vaskularne ektazije, erozivne promene na želucu, ezofagitis, Mallory-Weiss sindrom i karcinom želuca. Sklonost ka krvarenju posledica je nekoliko faktora. Najznačajniji je poremećaj hemostaze, nastao kao posledica disfunkcije trombocita u uremiji, odnosno poremećaja u njihovoj adhezivnosti i interakciji sa zidom krvnog suda. I sama procedura HD doprinosi krvarenju. Ponavljano i produženo izlaganje krvi stranim, veštačkim površinama dijaliznih membrana može dovesti do hronične aktivacije trombocita, a potom njihovog iscrpljivanja i disfunkcije. Anemija takođe doprinosi poremećenoj funkciji trombocita jer utiče na interakciju trombocita sa eubendotelom na mestu oštećenja sluznice. Na funkciju trombocita utiču i neki lekovi, poput beta-laktamskih antibiotika, cefalosporina treće generacije, aspirina i drugih nesteroidnih antireumatskih lekova (64). Oštećenju sluznice doprinosi i povišen nivo gastrina, što dovodi pojačane sekrecije želudačne kiseline i narušenog integriteta sluzokože (65).

Na nivo gastrina utiče snižena eliminacija zbog smanjene JGF, ali moguće je da u uremiji dolazi i do većeg stvaranja gastrina (63). Kao ostali faktori rizika za nastanak krvarenja iz gornjih partija gastrointestinalnog trakta, navode se i starija životna dob (više od 70 godina), rasa, šećerna bolest, pušenje, kardio-vaskularni komorbiditeti, snižena vrednost albumina u serumu, pothrnjenost i nepokretnost (66).

Bolesnici na hroničnom programu HD su pod povećanim rizikom da obole od hepatitisa izazvanih virusom hepatitisa B i C. Učestale transfuzije krvi i krvnih produkata, sama dijalizna procedura i oslabljen imunološki sistem predstavljaju faktore rizika (67).

1.1.3.6. Endokrini i metabolički poremećaji

Hormonalni poremećaji su česti u HBB. Bubrezi su mesto stvaranja hormona kao što su eritropoetin i kalcitriol (68). Oni imaju važnu ulogu u ekskreciji kortizola, aldosterona, polnih hormona, hormona štitaste žlezde i kateholamina, a učestvuju i u degradaciji hormona koji su po svom sastavu peptidi, poput paratireoidnog hormona (PTH), kalcitonina i insulina. Zbog poremećaja u ekskreciji, transportu i vezivanju ciljnih ćelija za hormone može se javiti i rezistencija na nivou receptora (69). Brojna stanja koja se sreću u uremiji, kao što su inflamacija, komorbiditeti, upotreba nekih lekova, dobijanje energije razgradnjom proteina i metabolička acidoza dodatno doprinose endokrinološkim poremećajima (68).

U svim stadijumima HBB sreću se poremećaji u metabolizmu kalcijuma i fosfora, dok je sekundarni hiperparatireoidizam česta komplikacija uznapredovale bubrežne slabosti. U trećem stadijumu HBB dolazi do retencije fosfora zbog smanjenog izlučivanja bubrežima, a kako se smanjuje i ukupna masa bubrežnog parenhima, dolazi do smanjenog stvaranja aktivnog oblika vitamina D, kalcitriola. To za posledicu ima smanjenu apsorpciju kalcijuma u crevima i sniženje ukupnih vrednosti jonizovanog kalcijuma u serumu. Koncentracija PTH u serumu počinje da raste kada JGF padne ispod 50-70 mL/min, što dovodi do mobilizacije kalcijuma i fosfora iz kostiju, gubitka koštane mase i pojave patoloških kalcifikacija, pretežno na krvnim sudovima. Stanje pogoršava rezistencija kalcijuma i vitamina D na receptorskom nivou. U stadijumima 4 i 5 dalje se pogoršavaju hipokalcemija, hiperfosfatemija, smanjuje se koncentracija vitamina D, a raste nivo PTH u serumu (69). Sekundarni hiperparatireoidizam se povezuje sa koštanim

oštećenjima, uremijskim pruritusom, refrakternom anemijom, kao i kognitivnom i seksualnom disfunkcijom, a utiče i na povišen kardiovaskularni morbiditet i mortalitet (14).

Već u ranim stadijumima HBB mogu se dokazati povišene vrednosti insulina u serumu, kao i rezistencija na insulin, obično uz normoglikemiju. Hiperinsulinemija je posledica smanjene ekskrecije u proksimalnim tubulima bubrega, ali i usporenog metabolizma insulina u proksimalnim tubulima, što dovodi do produženja njegovog vremena polu-života. Insulinska rezistencija je verovatno posledica prekomerne ekspresije potencijalnih inhibitora receptorske aktivnosti. Pogoršava se u stanjima malnutricije, inflamacije, hiperleptinemije, nedostatka kalцитriola i metaboličke acidoze, a nezavisna od stadijuma HBB (69).

Vrednosti hormona rasta (od growth hormone, GH) su obično povišene i rastu sa progresijom HBB. Posledica su pojačanog lučenja GH iz hipofize, ali i poremećene degradacije u ćelijama proksimalnih tubula bubrega. Na koncentraciju GH mogu uticati i povišene vrednosti proteina koji ga vezuju a koje se sreću u HBB (69).

Nivo prolaktina obično je povišen i kod žena i kod muškaraca sa HBB. Posledica je sniženog klirensa, ali i povećanog stvaranja zbog smanjene dopaminergičke aktivnosti. Povišene vrednosti prolaktina dovode se u vezu sa inhibicijom stvaranja gonadotropnih hormona, kao i sa povišenim kardiovaskularnim rizikom (68).

Sa pogoršanjem HBB dolazi i do poremećaja u radu štitaste žlezde. To može dovesti do subkliničkog hipotireoidizma, a laboratorijski se verifikuju snižene vrednosti tireoidnih hormona, u glavnom na račun trijod-tironina (T3). Zbog nakupljanja joda, pretežno u štitastoj žlezdi, što je posledica smanjene bubrežne funkcije, dolazi do blokade stvaranja tireoidnih hormona. Pogoršanju horonalnog statusa doprinose i acido-bazni i elektrolitski poremećaji. Tako acidoza dovodi do smanjenih koncentracija slobodnog trijod-tironina (fT3) i slobodnog tiroksina (fT4), a porasta koncentracije tireo-stimulišućeg hormona (TSH). Hiperfosfatemija remeti vezivanje tiroksina (T4) za transportne proteine, što može biti razlog za povišenu koncentraciju fT4. Na otežano vezivanje tiroidnih hormona za svoje nosače mogu uticati i brojni urmijski toksini: urea, kreatinin, indoli i fenoli (69).

Smatra se da je kod obolelih od HBB nivo adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i kortizola normalan ili blago povišen, uz očuvan dnevno-noćni ritam sekrecije kortizola. Kako bubrezi imaju važnu ulogu u metabolizmu kortizola, sa propadanjem bubrežne funkcije mogu se javiti produžen polu-život kortizola, kao i nakupljanje njegovih metabolita. Otežano je vezivanje kortizola za albumine, ali ne i za transkortin – kortizol vezujući globulin. Hiperkortizolemija za

posledicu može imati osteopeniju, poremećaj u distribuciji masnog tkiva i ubrzan katabolizam proteina (69).

Deficit testosterona je najčešći gonadalni poremećaj kod muškaraca sa HBB. Nastaje zbog povišenih vrednosti prolaktina ali i zbog uremijom izazvane inhibicije dejstva luteinizirajućeg hormona (LH) na Leydig-ove ćelije. Zbog nedostatka testosterona dolazi do redukcije mišićne mase i snage muškaraca. Testosteron je značajan za indukciju eritropoeze, tako da je njegov nedostatak predisponirajući faktor za nastanak anemije. Nedostatak testosterona utiče i na poremećaj koštane građe, a može uticati i na pojavu ili pogoršanje kardiovaskularnih bolesti (68).

Poremećaj metabolizma ugljenih hidrata je česta pojava u HBB. U stanju uremije naročito je značajna periferna insulinska rezistencija, posebno izražena na skeletnim mišićima. Poremećena je i sekrecija insulina na nivou β -ćelija pankreasa (70). Povišene vrednosti insulina u serumu mogu biti posledica smanjene ekskrecije ili usporene degradacije (69). Kao posledica ovih promena može nastati hiperglikemija ili smanjena glikozna tolerancija. Postoje podaci da vitamin D može poboljšati sekreciju insulina i delovati na smanjenje rezistencije na perifernom nivou (70).

Lipidski status prolazi kroz različite promene tokom progresije HBB. Tako se kod bolesnika sa blagom ili umerenom HBB, naročito ako imaju izraženu proteinuriju, mogu sresti povišene vrednosti ukupnog holesterola u serumu i povišene vrednosti lipoproteina male gustine (LDL). U stanju terminalne bubrežne slabosti, naročito kod bolesnika na HD, sreću se normalne ili čak snižene vrednosti serumskog holesterola i LDL, povišene vrednosti serumskih triglicerida i lipoproteina vrlo male gustine (VLDL), uz nakupljanje oksidisanog LDL, lipoproteina srednje gustine (IDL) i hilomikronskih ostataka. Dolazi i do smanjenja koncentracije lipoproteina velike gustine (HDL) i njegovog osnovnog proteinskog konstituenta apoA-1. Pored smanjenog stvaranja, poremećena je i maturacija HDL, što za posledicu ima njegovo smanjeno antioksidativno i antiinflamatorno dejstvo, kao i snižen kapacitet za reverzni transport holesterola. Osim same dijalizne procedure, na lipidski status obolelih utiču i genetički poremećaji u metabolizmu lipida, malnutricija, stanje hronične inflamacije, kao i upotreba nekih lekova. Od posebnog značaja je upotreba statina, fibrata, glikokortikoida, sevelamera, rapamycina i kalcineurinskih inhibitora (71).

1.1.3.7. Neuromuskularni poremećaji

Neuromišićni poremećaji javljaju se kod većine bolesnika u terminalnom stadijumu HBB. Kao posledica ovih poremećaja, dolazi do smanjenja kondicije i fizičke nesposobnosti. Opeservacione studije iz sedamdesetih godina prošlog veka isticale su značaj "srednjih molekula" u nastanku neuropatije, jer je primećena niža stopa neuropatije kod bolesnika lečenih PD, u poređenju sa onima koji su bili na hroničom programu HD. Novija istraživanja, međutim, nisu uspela da dokažu neurotoksičnost "srednjih molekula", ali je utvrđena značajna povezanost između funkcije nerava i visokih vrednosti kalijuma u serumu (72).

Brojni su poremećaji centralnog nervnog sistema koji se sreću u uremiji. Uremijska encefalopatija dovodi do poremećajem stanja svesti koje se može manifestovati od blage konfuzije pa sve do duboke kome (73).

Kognitivni poremećaji su takođe česti, a manifestuju se otežanim pamćenjem, usporenim misaonim procesima kao što su planiranje i zaključivanje, koncentracija, analiziranje i prihvatanje novih informacija, perceptualno-mišićne aktivnosti, govor i druge (74).

Periferna uremijska neuropatija je najčešća neurološka komplikacija uremije. Stepem težine neuropatije direktno je povezan sa JGF, a klinički značajni simptomi javljaju se kada JGF manja od 12 ml/min. Najčešće se manifestuje kao sporo progresivna, simetrična, neuropatija koja je zavisna od dužine nervnog vlakna. Tako se senzorni simptomi, u vidu parestezija, gubitka osećaja i bolova, najpre javljaju u regionima koji su najudaljeniji od kičmenog stuba. Sa progresijom bolesti u zahvaćenim regionima dolazi do mišićne slabosti i atrofije, a nakon toga dolazi i do pojave simptoma u priksimalnim delovima nogu i rukama. U ređim slučajevima, kao posledica demijelinizacionih procesa, dolazi do razvoja motornih poremećaja. Tada se u roku od nekoliko dana ili nedelja razvija izražena mišićna slabost. Još jedan od ređih oblika periferne uremijske neuropatije je i neuropatija malih vlakana. Kako ova vlakna prenose osećaje bola i temperature, kliničkom slikom dominiraju osećaj paljenja i bolovi. Neuropatija malih vlakana obično je udružena sa neuropatijom dugih vlakana. Ukoliko se javi izolovano, potrebno je razmotriti i druge poremećaje, kao što je sindrom nemirnih nogu. Sindrom nemirnih nogu manifestuje se snažnom potrebom bolesnika za pomeranjem nogu. To je naročito izraženo u noćnim satima, nakon perioda smanjene aktivnosti, kada dolazi do pojave različitih senzornih simptoma (72).

Mononeuropatija je poremećaj senzorne i motorne funkcije samo jednog nerva. Kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom bolesti, najčešće se manifestuju kao sindrom karpalnog tunela, ularna neuropatija i retko kao femoralna neuropatija.

Ishemijska monomelična neuropatija je akutna komplikacija nastala nakon kreiranja AV fistule, zbog šanta arterijske krvi od distalnih delova ekstremiteta, što dovodi do nervne ishemije. Obično je zahvaćeno više nerava, a pacijenti se žale na gubitak osećaja i mišićnu slabost u podlaktici i šaci (72).

Poremećaji autonomnog nervnog sistema su u osnovi patofizioloških procesa koji dovode do hipertenzije, ishemijske bolesti srca i kongestivne srčane insuficijencije, a smatra se i da dovode do progresije HBB. Mogu se utvrditi bilo direktnim merenjem koncentracije noradrenalina i mikroneurografijom, ili češće indirektno, utvrđivanjem promena u brzini srčanog rada, vrednostima krvnog pritiska ili funkciji baroreceptora (75). Klinički se manifestuju srčanim aritmijama, posturalnom hipotenzijom, poremećajima znojenja, poremećajima u radu creva i mokraćne bešike i impotencijom (72).

Uremijska miopatija javlja se kod oko polovine bolesnika na hroničnom programu HD, a dovodi do slabosti proksimalne grupe mišića, naročito na donjim ekstremitetima. To za posledicu ima brzo zamaranje i značajno smanjenje fizičke aktivnosti. Najverovatnije je posledica biofizičkih promena na membrani mišićnog vlakna, koje nastaju kao posledica nakupljanja uremijskih toksina, insulinske rezistencije, deficita karnitina i hiperparatiroidizma (72).

1.1.3.8. Dermatološke promene

Veliki broj kožnih bolesti može se javiti kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom bolešću. U njihovoj osnovi može biti osnovna bubrežna bolest, ili sam uremijski milje. Kako mogu dovesti do ozbiljne uznemirenosti, napetosti, depresije i poremećaja spavanja, imaju vrlo značajan negativan efekat na kvalitet života ovih bolesnika i njihovo mentalno i fizičko zdravlje. Neke od najznačajnijih su: promene u pigmentaciji, sa pojavom bledila ili hiperpigmentacije, suva koža (xerosis), gruba suva koža (ichthyosis), uremijski svrab, nodularni prurigo, stečena perforirajuća dermatoza, učestale bakterijske, gljivične i virusne infekcije, purpura, kožna porfirija, pseudoporfirija, kalcifikujuća uremijska arteriolopatija, benigna nodularna hiperplazija,

promene na noktima, lomljiva kosa, alopecija, angularni heilitis, uremijsko inje, nefrogena sistemska fibroza (76).

Iako je incidenca uremijskog pruritusa opala u prethodnih desetak godina zbog poboljšanja kvaliteta same dijalizne procedure, to je i dalje jedna od najčešćih i najizraženijih subjektivnih tegoba. Klinička slika varira od blagog osećaja nelagodnosti pa do teške uznemirenosti koja traju i danju i noću. Takođe, postoje interindividualne razlike u lokalizaciji najizraženijih tegoba: svrab može zahvatati čitavo telo, ili biti ograničen na leđa, lice ili ruke. U početku se ne vide značajnije kožne promene, ali se, zbog upornog češanja, kasnije mogu pojaviti ekskoriacije sa ili bez impetiga ili u ređim slučajevima prurigo nodularis. Tačan razlog za nastanak uremijskog pruritusa nije poznat, a kao mogući uzroci navode se imunološki poremećaji i poremećaji na nivou opioidnog sistema (76).

Xerosis ili suva koža nastaje zbog atrofije znojnih i lojnih žlezda, sa poremećenim stvaranjem znoja i dermalnom hidracijom i poremećene arborizacije slobodnih kutanih nervnih vlakana tipa C. Može ubrzati nastanak uremijskog pruritusa kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom bolešću.

Kalcifikujuća uremijska arteriolopatija (CUA) je vaskulopatija kože i potkožnog tkiva udružena sa HBB koja je potencijalno opasna po život. Bolest počinje podmuklo, obično nakon traume, početka lečenja oralnim antikoagulansima ili hipotenzivne epizode, sa pojavom promena koje podsećaju na livedo reticulais na mestima koja su obično bogata potkožnim masnim tkivom, kao što su abdomen, zadnjica i butine. Nakon nekoliko dana ili nedelja promene se menjaju i postaju bolni podkožni plakovi ili čvorovi, koji potom egzulcerišu a na vrhu nekrotičnog ulkusa se formira krusta. Nekroza se može proširiti u dubinu, sa zahvatanjem mišića, a nekrotične promene podložne su infekciji. Faktori rizika za nastanak CUA su gojaznost, šećerna bolest, ženski pol, vreme provedeno na HD, etnička pripadnost, a spominju se i upotreba analoga vitamina D, oralnih antikoagulanasa, preparata gvožđa, vezivača fosfora koji sadrže kalcijum i glikokortikoida. U osnovi oboljenja je disbalans između materija koje podstiču i inhibišu kalcifikaciju u zidovima krvnih sudova (76).

Nefrogena sistemska fibroza je stanje koje se karakteriše pojavom bolne i onesposobljavajuće fibroze i zadebljanja kože, sa povremenim zahvatanjem unutrašnjih organa kao što su pluća, srce, jednjak, jetra, testisi i moždane ovojnice i poprečno-prugaste muskulature. Bolest obično počinje sa pojavom bolnog otoka i crvenila kože na donjim ili gornjim ekstremitetima. Promene su najčešće simetrične i imaju formu plakova, papula ili nodulusa.

Nakon nekoliko dana ili nedelja promene konfluiraju, a zahvaćena koža postaje jasno zadebljala i podseća na teksturu drveta ili narandžinu koru. Pokreti u zahvaćenim zglobovima najčešće su ograničeni, dovodeći do imobilizacije i kontraktura. Promene se šire proksimalno, ali obično štede glavu. Faktori rizika za nastanak ovog oboljenja uključuju poremećaje kogulacije, bolesti jetre, duboku vensku trombozu ili trombozu vaskularnog pristupa, nedavne hirurške intervencije na krvnim sudovima, hiperfosfatemiju i upotrebu visokih doza rekombinantnog eritropoetina. Dokazana je i veza između ovog oboljenja i upotrebe kontrastnog sredstva na bazi gadolinijuma. Sa druge strane, upotreba inhibitora angiotenzin konvertujućeg enzima ima protektivno dejstvo (76).

Stečenu perforirajuću dermatozu predstavljaju nizovi konfluiranih papula sa centralnim keratotičnim delom koji podseća na školjku. Obično su udruženi sa šećernom bolešću, bolestima jetre, poremećajima u radu štitaste žlezde, malignim bolestima, šugom i sindromom stečene imunodeficijencije. Najčešće su zahvaćeni trup, proksimalni delovi ekstremiteta, koža glave i lice. Tačan uzrok je nepoznat, ali se smatra da predstavljaju inflamatornu reakciju na prisustvo uremijskih toksina, taloženje urata ili trauma nastalih češanjem (76).

Kožna porfirija javlja se kod oko 5% bolesnika na hroničnom programu HD, a klinički se manifestuje pojavom bula na dorzalnoj strani šaka i stopala. Bule se mogu javiti i na licu i tada su obično praćene hiperpigmentacijom i pojačanom maljavošću. Nakon sekundarne bakterijske infekcije na mestu bula obično ostaju ožiljci. Laboratorijskim ispitivanjima može se dokazati povećan nivo uroporfirina. Okidač za nastanak ovih promena može biti unos alkohola, estrogena ili gvožđa, ili neke hronične infekcije kao što su hepatitis B, hepatitis C ili HIV (76).

Nastanak pseudoporfirije pokreću lekovi kao što su amiodaron, naproksen i tetraciklini. Iako se klinički jednako manifestuje kao i porphyria cutanea tarda, laboratorijski se mogu razlikovati po nivou uroporfirina (76).

1.1.3.9. Imunološki poremećaji

Imunološki sistem ima značajnu ulogu u zaštiti organizma od različitih oboljenja. Omogućava otkrivanje i uništavanje invazivnih mikroorganizama i ćelija kancera, kao i u identifikovanju, otklanjanju i oporavku tkiva oštećenih traumom, infekcijom, ishemijom,

toksinima, autoimunim procesima i drugim vrstama oštećenja. Imunološki sistem se sastoji iz urođenog i stečenog dela, a oba su poremećena kod bolesnika sa HBB (77).

Monociti i njihovi tkivni ekvivalenti makrofazi, ćelije nespecifičnog, urođenog imuniteta, se u uremijskom miljeu nalaze u stanju spontane aktivacije, ali sa smanjenom fagocitnom sposobnošću. Ove ćelije stvaraju brojne citokine, a kod bolesnika na hroničnom programu HD najznačajniji su interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8), tumorski faktor nekroze α (TNF- α) (78). Osim toga, uremijski milje ima i pro-aterogeni efekat jer posredstvom monocitnog hemotaktičnog proteina 1 (MCP-1), dolazi do povećane adhezije i infiltracije monocita u endotel krvnih sudova (77).

Polimorfonuklearni granulociti se u uremiji spontano aktiviraju, dovodeći do sistemskog oksidativnog stresa, inflamacije i oštećenja tkiva. Uz to, njihova fagocitna aktivnost je smanjena, a apoptoza povećana.

Dendritične ćelije spadaju u grupu antigen-prezentujućih ćelija. Njihova glavna uloga je u započinjanju i održavanju kako urođenog, tako i stečenog imuniteta. U stanju uremije dolazi do deplecije i disfunkcije ovih ćelija. To se naročito odnosi na podgrupu plazmocitoidnih dendritičnih ćelija, koje reaguju na unutarćelijske antigene, kao što su virusi i nukleinske kiseline. Za razliku od njih, mijeloidne dendritične ćelije reaguju na površinske antigene.

Ćelije prirodne ubice predstavljaju prvu liniju odbrane od infekcije i tumora. U zdravoj populaciji one čine 10% ukupnih limfocita u perifernoj krvi. Kod bolesnika na hroničnom programu HD registruje se smanjen broj ćelija prirodnih ubica, ali bez značajnijeg poremećaja u njihovoj funkciji (79).

Sprovedenim ispitivanjima nisu dokazane greške u funkciji samog T limfocita, nego je njihova aktivacija smanjena zbog neadekvatnog kostimulatornog signala antigen-prezentujuće ćelije (80). Sa progresijom bubrežne bolesti, dolazi do deplecije naivnih, memorijskih i citotoksičnih T limfocita. Stepem apoptoze je u direktnoj vezi sa stepenom azotemije, oksidativnim stresom, sekundarnim hiperparatireoidizmom, opterećenošću gvoždem i inflamacijom (77).

Ukupan broj B limfocita je smanjen kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom bolešću. Razlog za to mogu biti povećana apoptoza ovih ćelija, ali i poremećaji u njihovoj diferencijaciji i maturaciji. Zbog toga dolazi do neadekvatnog humoralnog odgovora na infekcije i vakcinacije, uz povećanu incidencu infekcija kod bolesnika u uremiji (77).

Bolesnici sa uznapređovalom bubrežnom bolešću se nalaze se u stanju hronične inflamacije. Kako je hronična inflamacija faktor rizika za nastanak malnutricije, ateroskleroze, kardiovaskularnih oboljenja i anemije, ima veliki uticaj na ukupni morbiditet i mortalitet ove populacije (77). Postoje brojni razlozi za nastanak hronične inflamacije i oni se mogu svrstati u dve velike kategorije (81). U prvoj kategoriji su faktori povezani sa samim bolesnikom i odnose se na osnovnu bubrežna bolest i prethodnu terapiju, snižen bubrežni klirens citokina, neprepoznate perzistentne infekcije poput dentalnih infekcija i infekcije koje izaziva *Chlamydia pneumoniae*, komorbiditeti kao što su hronična srčana insuficijencija, šećerna bolest i sama ateroskleroza, nakupljanje krajnjih produkata glikacije, hiperlipoproteinemije, neki lekovi, a nisu zanemarljivi ni nasledni faktori (78, 81, 82). U drugoj grupi su faktori povezani sa procedurama kojima su bolesnici izloženi, odnosno HD. Najznačajniji su bioinkompatibilnost dijaliznih membrana, kontaminacija dijalizata, prisustvo acetata u dijalizatu, infekcije vaskularnog pristupa i drugi (81). Prilikom kontakta krvi i bioinkompatibilne celulozne dijalizne membrane, dolazi do aktivacije komplementa alternativnim putem. To za posledicu ima stvaranje terminalnog kompleksa komplementa. Ovaj kompleks dovodi do citotoksičnih akcija monocita i polimorfonuklearnih granulocita. Osim u kontaktu sa celuloznom membranom, komplement se može aktivirati zbog prisustva oksidisanih lipida, lipopolisaharida i drugih delova bakterijskog zida u dijaliznoj tečnosti ili vodi. I reaktant akutne faze zapaljenja, C reaktivni protein (CRP), može nakon vezivanja sa polisaharidnim bakterijskim zidom, dovesti do aktivacije komplementa (78). Najznačajniji markeri inflamacije kod bolesnika na hroničnom programu HD su CRP, IL-6 i prokalcitonin (PCT) (82).

1.1.4 LEČENJE

Lečenje obolelih od HBB prvenstveno zavisi od stadijuma obolenja u kome se nalaze.

1.1.4.1. Bolesnici u stadijumima 1 i 2 hroničnih bubrežnih bolesti

Ukoliko kod ovih bolesnika nije otkriven patološki nalaz urina, potrebno je striktno sprovoditi već navedene mere prevencije (tabela 3).

Odavno je poznato da dobra regulacija krvnog pritiska usporava progresiju bubrežne bolesti i smanjuje rizik od kardiovaskularnih komplikacija. Kod obolelih od HBB često je

nephodno kombinovati antihipertenzive iz više klasa. Zbog svog renoprotektivnog dejstva, u prvoj terapijskoj liniji su inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima (ACE inhibitori) i blokatori angiotenzin 2 receptora (ARB) (83, 84). Kako je kliničkim studijama dokazano dugotrajno renoprotektivno dejstvo, preporučuje se upotreba Ramiprila i Benazeprila (85, 86). Bolesnici, uz savet da ograniče unos kuhinjske soli na 3-5g na dan i dnevni unos tečnosti na 2-3 l, najčešće moraju uzimati diuretike Henleove petlje, i to same ili u kombinaciji sa Spironolaktonom (83). Ako se Spironolakton u dnevnoj dozi od 25mg kombinuje sa ACE inhibitorom ili ARB, dokazano je da ima antihipertenzivno, kardioprotektivno i antiproteinurično dejstvo (87). U slučaju potrebe, mogu se koristiti ne-dihidropiridinski kalcijumski antagonisti (Diltiazem i Verapamil), za koje je takođe dokazano da imaju renoprotektivno i dejstvo na smanjene proteinurije (88). Drugu terapijsku liniju čine β -blokatori, naročito ako je prisutno i srčano oboljenje (89) i centralni simpatolitički agensi (84).

Regulisanje glikemije zahteva multidisciplinarnan pristup, koji obuhvata primenu odgovarajućim medikamentima, pravilnu ishranu i fizičku aktivnost. Vrednosti hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) kojima treba težiti kreću se oko 7%, da bi se prevenirao nastanak mikrovaskularnih komplikacija šećerne bolesti, uključujući dijabetesnu nefropatiju. Kod bolesnika kod kojih postoji rizik od hipoglikemije ne preporučuju se vrednosti HbA_{1c} < 7%, a kod onih sa prisutnim komorbiditetima i očekivanim ograničenim životnim vekom, uz sklonost ka hipoglikemiji, dozvoljene su vrednosti HbA_{1c} > 7% (90).

Povišena vrednost mokraćne kiseline u krvi je snažan faktor rizika za razvoj oboljenja srca i bubrega, te se u slučaju hiperurikemije preporučuje se upotreba Alopurinola, ali u manjim dozama da bi se izbeglo njegovo ozbiljno toksično dejstvo (91).

U slučaju pojave dislipidemija, preporučuje se upotreba statina u malim početnim dozama, da bi se izbegao rizik od miopatije (83).

Poznato je da prekomerna telesna masa dovodi do glomerulomegalije, fokalno-segmentne glomeruloskleroze i pogoršava nalaz proteinurije, što za posledicu ima progresiju bubrežnog oštećenja (92). Zato se bolesnicima savetuje regulacija telesne mase, što podrazumeva odgovarajući dijetetski režim, redovnu fizičku aktivnost (30 minuta dnevno), uz ograničeno konzumiranje alkoholnih pića i prestanak pušenja.

Dodatne mere kojima se usporava napredovanje bubrežnog oštećenja podrazumevaju: upotreba lekova iz grupe nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL), ne više od 1 ili 2 puta nedeljno, svakodnevno uzimanje malih doza aspirina nije kontraindikovano, ne savetuje se

kontinuirana upotreba acetaminofena, ne savetuje se upotreba bisfosfonata i.v., ne savetuje se peroralna upotreba estrogena kod starijih žena sa HBB, biljni preparati se ne preporučuju jer su mnogi nefrotoksični (83).

Osobe sa patološkim nalazom urina, u smislu proteinurije i /ili hematurije, osim mera prevencije zahtevaju i dodatne dijagnostičke procedure, radi utvrđivanja prirode bolesti te adekvatno lečenje (1, 7).

1.4.2. Bolesnici u stadijumima 3-5 hronične bubrežne bolesti

Kod bolesnika sa JGF između 30 i 59 ml/min/1,73m² potrebno je sprovesti mere za usporavanje napredovanja hronične bubrežne slabosti, koje su date u tabeli 4 (1).

Tabela 4 Mere za usporavanje progresije hronične bolesti bubega

1. Uporno lečenje hipertenzije i održavanje cilnog krvnog pritiska $\leq 130/80$ mmHg
2. Primena ACEI i/ili AT2R blokatora
3. Striktna kontrola glikemije
4. Ograničenje unosa belančevina ishranom
5. Lečenje dislipidemija
6. Lečenje anemije
7. Korekcija poremećaja kalcijuma i fosfora po potrebi
8. Smanjenje telesne mase kod bolesnika sa prekomornom telesnom masom
9. Ograničenje unosa soli na manje od 100 mmol/dan
10. Izbegavanje nefrotoksičnih lekova
11. Doziranje svih lekova koji se izlučuju preko bubrega prema JGF
12. Prestanak pušenja
13. Ograničen unos alkohola
14. Redovna fizička aktivnost
15. Redovne laboratorijske kontrole

Sa smanjivanjem vrednosti JGF raste sklonost ka hipoglikemiji. To je posledica sniženog renalnog klirensa insulina i nekih oralnih preparata za lečenje dijabetesa, kao i poremećene glkoneogeneze na nivou bubrega sa smanjenjem renalne mase. Zbog toga je neophodno voditi računa o vrsti i dozi medikamenta koji se primenjuju kod ovih bolesnika. Kod bolesnika kod kojih je neophodna primena insulinskih preparata (Glargine, Detemir, Neutral Protamine Hagedorn (NPH), Regular, Aspart, Lispro i Glulisine) potrebne su česte kontrole glikemije i prilagođavanje doze leka odgovoru bolesnika. Prvu generaciju preparata sulfoniluree (Hlorpropamid, Tolazamid i Tolbutamid) treba izbegavati jer je osnovni put eliminacije ovih lekova i metabolita koji od njih nastaju preko bubrega. Iz druge generacije preparata sulfoniluree, preporučuje se upotreba Glipizida i Gliklazida, dok Gliburid i Glimeperid treba izbegavati (90). Metformin iz grupe bigvanida je jeftin i efikasan oralni hipoglikemik i predstavlja lek prvog izbora i kod gojaznih i kod normalno uhranjenih bolesnika sa insulin nezavisnim tipom šećerne bolesti (93). Ovaj lek treba izbegavati kada JGF padne ispod 30ml/min/1,73m^2 jer se i on izlučuje preko bubrega. Metformin ne povećava sklonost ka hipoglikemiji, ali je laktatna acidoza retko i ozbiljno neželjeno dejstvo, koje može nastati kada se akumulira toksična količina metformina. (90). Lekovi iz grupe Thiazolidinediona (Pioglitazone i Rosiglitazone) ne eliminišu se preko bubrga, pa je njihova upotreba moguća u HBB. Oprez je neophodan jer ovi lekovi doprinose zadržavanju tečnosti u organizmu, što može dovesti do pogoršanja uznapredovale srčane i bubrežne slabosti. Osim toga, mogu doprineti gubitku kosti i sklonosti ka frakturama kod bolesnika sa prethodnim koštanim oboljenjem. Lekovi iz grupe meglitinida (Repaglinid i Nateglinid) mogu se oprezno koristiti kada JGF padne ispod 30ml/min/1,73m^2 . Početna doza za Repaglinid je $0,5\text{mg}$ uz obrok, a za Nateglinid 60mg uz obrok. Inhibitore alfa-glukozidaze (Askarboza i Miglitol) treba izbegavati kada JGF padne ispod 30 odnosno 25 ml/min/1,73m^2 (90). Inhibitori dipeptidil peptidaze IV (DPP IV) sprečavaju razgradnju peptida sličnog glukagonu -1 (GLP-1 od eng. glucagon like peptide), što dovodi do povećane sekrecije insulina i smanjenog oslobađanja glukagona, a to za posledicu ima niže vrednosti glikemije (94). Svi lekovi iz ove grupe (Sitagliptin, Saxagliptin, Linagliptin i Vildagliptin) mogu se koristiti kod obolelih od HBB, ali prilagođavanje doze nije potrebno jedino kod Linagliptina (90). Mimetici inkreatina (Exenatide i Liraglutide) dovode do povećane sekrecije insulina, smanjene sekrecije glukagona, usporenog pražnjenja želuca i ranijeg nastanka osećaja sitosti. Exenatide se izlučuje bubrezima te se njegova upotreba ne preporučuje kada je $\text{JGF} < 30\text{ ml/min/1,73m}^2$, a iako se Liraglutide ne izlučuje bubrezima, zbog nedovoljno podataka za sada se ne preporučuje njegova upotreba kada

je JGF < 60 ml/min/1,73m² (90). Zbog nedovoljno podataka upotreba analoga amilina (Pramlitinid) i agonista dopaminskih receptora (Bromokriptin mezilat) za sada se ne preporučuje kod bolesnika sa uznapredovalom bubrežnom bolešću (90).

Kod bolesnika sa JGF manjom od 30 ml/min/1,73m² moraju se lečiti različiti metabolički i endokrini poremećaji koji se javljaju u hroničnoj bubrežnoj slabosti, a to su ujedno i mere kojima se usporava njena dalja progresija (7).

Preporučuje se ograničen unos belančevina hranom: 0,8 ili 0,6 g/kg telesne mase, u zavisnosti od jačine JGF i stanja nutricije (7).

Poremećaji u metabolizmu minerala i kostiju, koji se javljaju u uznapredovaloj bubrežnoj slabosti, mogu dovesti do hiperfosfatemije, hipokalcemije, visokih vrednosti paratiroidnog hormona i niskih vrednosti 1,25-dihidroksi vitamina D. (83) Zbog toga je, pored ograničenog unosa fosfora ishranom, u terapiju često potrebno uključiti i vezivače fosfora i/ili metabolite vitamina D (7).

Metabolička acidoza koriguje se peroralnom primenom natrijum bikarbonata, kada je koncentracija bikarbonata u serumu niža od 22 mmol/l (7). U lečenju acidoze može se koristiti i kalcijum karbonat (1000-2000mg/dan), čime se osim acidoze koriguje i hipokalcemija i hiperfosfatemija (83).

Hiperkalijemija je česta komplikacija završnih stadijuma hronične bubrežne slabosti. Zbog toga je neophodno obolelima savetovati smanjen unos namirnica bogatih kalijumom, uz primenu diuretika Henleove petlje i jonoizmenjivačkih smola (83).

U lečenju anemije koriste se preparati gvožđa, agensi koji stimulišu eritropoezu (ESA od erythropoiesis-stimulating agent) i transfuzije eritrocita. Prilikom prepisivanja preparata gvožđa potrebno je dobro proceniti odnos između potencijalnih štetnih efekata ove terapije i koristi, odnosno izbegavanja ili smanjenja broja transfuzija, smanjenja potreba za ESA i simptoma povezanih sa anemijom. Kod bolesnika sa HBB koji nisu na HD, gvožđe se može unositi peroralnim putem ili intravenski, u zavisnosti od težine deficita gvožđa, postojanja venskog pristupa, ranijeg odgovora na peroralne preparate gvožđa, neželjenih dejstva peroralnih i intravenskih preparata gvožđa, komplijanse bolesnika i cene. Kod bolesnika koji su na hroničnom programu HD preporučuje se primena intravenskih preparata gvožđa (48). Pre započinjanja lečenja upotrebom ESA, potrebno je proceniti potencijalne koristi od ove terapije (smanjenje broja transfuzija i simptoma povezanih sa anemijom) i neželjena dejstva do kojih mogu dovesti (cerebrovaskularni incidenti, tromboza venskog pristupa i hipertenzija). Kod bolesnika koji još

nisu na HD, ne preporučuje se započinjanje lečenja upotrebom ESA ako je vrednost hemoglobina >100g/l. Kod bolesnika na hroničnom programu HD preporučuje se upotreba ESA kada su vrednosti hemoglobina između 90 i 100g/l. Ciljna vrednost hemoglobina kojoj se teži je do 115g/l, a nikako se ne preporučuje namerno postizanje vrednosti hemoglobina više od 130g/l. Inicijalna doza ESA određuje se individualno, prema vrednostima hemoglobina, telesnoj masi i kliničkim okolnostima. Doze održavanja ESA takođe se određuju individualno, u zavisnosti od koncentracije hemoglobina i brzine kojom se koncentracija menja, trenutne doze ESA i kliničkih okolnosti (48). U zavisnosti od dužine delovanja, ESA možemo podeliti na kratkododelujuće i dugododelujuće. Kratkododelujući agensi imaju polu-život od 6-8h kada se daju intravenski, a 19-24h ako se primenjuju su subkutano, zbog čega su efikasniji kada se daju subkutano. Trenutno u upotrebi su: Epoetin alfa, Epoetin beta, Epoetin delta, Epoetin omega, Epoetin theta i Epoetin alfa biosimilar. Iako Epoetin alfa i Epoetin beta imaju određene strukturalne razlike, nema klinički značajnih razlika u njihovom polu-životu, efikasnosti i bezbednosti. Epoetin zeta je Epoetin alfa biosimilar koji ima identičnu aminokiselinsku sekvencu, ali je korišten različit stabilizator. Kliničke konsekvence ovih razlika za sada nisu prijavljene, te se Epoetin zeta smatra terapijskim ekvivalentom Epoetina alfa. Kod bolesnika na hroničnom programu HD kratkododelujući ESA se obično primenjuju tri puta nedeljno intravenskim putem, dok se kod bolesnika u predijaliznom stadijumu, kod onih na PD i transplantiranih obično primenjuju subkutanom putem, jednom do tri puta nedeljno. Dugododelujući agensi imaju poboljšane farmakokinetičke i farmakodinamičke karakteristike zbog kojih im je produžen polu-život i smanjen afinitet za vezivanje za receptor eritropoetina, čime se objašnjava njihovo stimulisanje eritropoeze tokom dužeg perioda. Trenutno su dostupni Darbepoetin alfa, Kontinuirani aktivator eritropoetinskog receptora (CERA od engl. continuous erythropoietin receptor activator) i Peginesatid. Nema razlike u efikasnosti agensa bez obzira na način primene (intravenski ili subkutano). Darbepoetin alfa ima polu-život od 25,3h ako se primenjuju intravenski, a 56h ako se primenjuje subkutano. Kod bolesnika sa stabilnom bubrežnom bolešću, obično se primenjuje jednom nedeljno ili jednom na dve nedelje. CERA ima polu-život od 134h ako se primenjuje intravenski i oko 139h nakon subkutane administracije. Afinitet za vezivanje za eritropoetinski receptor CERA je oko 50 puta niži nego Epoetina beta. Dovoljno ga je primenjivati jednom na dve nedelje tokom inicijalne faze primene i jednom mesečno u fazi održavanja. Peginesatid je pegilovani, sintetički, na peptidima zasnovan ESA koji nema strukturalne homologije sa endogenim eritropoetinom, ali se vezuje za receptor za eritropoetin i nakon toga pokreće isti

signalni put kao i endogeni eritropoetin. Polu-život nakon intravenske i subkutane primene kod bolesnika na HD je oko 48h, a dovoljno ga je primenjivati jednom mesečno. Antitela usmerena na eritropoetin ne daju ukrštenu reakciju sa peginesatidom, niti neutrališu njegovu eritropoetsku aktivnost, što omogućuje korekciju anemije u slučaju pojave anemije uzrokovane neutrališućim antitelima usmerenim na eritropoetin. (95). Transfuziju eritrocita potrebno je izbegavati kad god je to moguće, da bi se izbegli rizici povezani sa ovom procedurom (alosenzibilizacija potencijalnog kandidata za transplantaciju, alergijske reakcije ili groznica, hemoliza, akutno oštećenje pluća povezano sa transfuzijom, anafilaksa, opterećenje volumenom, hiperkalijemija, citratna toksičnost, hipotermija, koagulopatije, opterećenje gvožđem ili infekcije povezane sa transfuzijom). Transfuzija se koriste kod bolesnika kod kojih je terapija ESA neefikasna ili rizična (sa ranijim cerebrovaskularnim incidentima, sa ranijom ili trenutnom malignom bolešću), ako postoji potreba za brzom korekcijom anemije da bi se stabilizovalo stanje pacijenta ili u sklopu preoperativne pripreme pacijenta (48).

Da bi se sprečila progresija HBB, preporučuje se pažljivo doziranje lekova koji se izlučuju preko bubrega i nefrotoksičnih lekova (aminoglikozidi, nesteroidni antiinflamatorni lekovi i radiografski kontrasti) (7).

Preporučuje se imunizacija bolesnika protiv hepatitisa B, influence i pneumokoknih infekcija (7).

Metode za aktivno lečenje hronične bubrežne slabosti su HD, PD i transplantacija bubrega. Bolesnika je neophodno pripremiti za aktivno lečenje, što podrazumeva kreiranje vaskularnog pristupa kao pripremu za HD, peritoneumskog pristupa za lečenje PD ili sprovođenje priprema za transplantaciju bubrega (7).

HD je metoda ekstrakorporalnog prečišćavanja krvi, u čijoj je osnovi razmena čestica između dva rastvora preko semipermeabilne membrane (96). Osnovni cilj HD je ponovna uspostava intracelularnog i ekstracelularnog fluidnog balansa, koji se sreće kod osoba sa očuvanom funkcijom bubrega (96). Ova metoda za zamenu bubrežne funkcije bazira se na tri fizička principa: difuzija, ultrafiltracija ili konvekcija i adsorpcija od strane dijalizne membrane. Difuzija predstavlja transport čestica sa jedne na drugu stranu membrane koji se javlja zbog razlike u koncentracijama, a kreće se sa mesta veće ka mestu manje koncentracije (96). Na stepen difuzije najviše utiču koncentracija i veličina čestica. Tako male molekule poput uree difunduju brzo, dok se difuzija većih molekula (fosfati, β_2 -mikroglobulin, albumini), kao i molekula vezanih za proteinske nosače (p-krezol), odvija dosta sporije (97). Difuzija je osnovni mehanizam

uklanjanja uremijskih toksina iz krvi u procesu dijalize. Ultrafiltracija ili konvektivni protok predstavlja primarni prolazak tečnosti, koja sa sobom, kroz semipermeabilnu membranu, nosi i rastvorene čestice. Nastaje zbog gradijenta pritiska između krvi i dijalizne tečnosti. Na veličinu ultrafiltracije utiču transmembranski pritisak i permeabilnost membrane. Pored stepena ultrafiltracije, na konvektivni transport čestica utiču i koeficijent propustljivosti membrane i koeficijent refleksije čestica. Na prolazak čestica kroz membranu utiče i električni naboj same čestice, kao i sloj adsorbovanih proteina na unutrašnjoj strani membrane. Doprinos ultrafiltracije detoksikaciji organizma tokom dijalize je zanemarljiv. Neke molekule, kao što su faktor nekroze tumora α (TNF α), interleukini 6 i 8, β_2 -mikroglobulin i PTH, mogu se adsorbovati na dijaliznu membranu. To može doprineti njihovom ukupnom klirensu. Osim toga, stvoreni sloj na unutrašnjoj strani membrane može negativno uticati na transport čestica preko membrane, ali i poboljšati biokompatibilnost membrane smanjujući kontakt krvi sa membranom za dijalizu. (96).

Hemofiltracija (HF) je metoda čiji je osnovni fizički princip ultrafiltracija. Zbog postojanja transmembranskog pritiska, dolazi do odvajanja tečnosti i rastvorenih čestica iz krvnog odeljka i njihovog prelaska u ultrafiltratni odeljak. Izdvajanje čestica zavisi samo do stope ultrafiltracije i promera pora na semipermeabilnoj membrani. Ultrafiltracijom se mogu eliminisati čestice molekulske mase do 20 000 D, dok se difuzijom eliminišu čestice molekulske mase do 1000 D (98).

Hemodijafiltracija (HDF) je metoda ekstrakorporalnog prečišćavanja krvi koja predstavlja kombinaciju hemodijalize i hemofiltracije. Ova metoda omogućuje uklanjanje praktično čitavog spektra uremijskih toksina različite molekulske mase, čime se približava funkciji prirodnih bubrega. Klirens malih molekula (difuzijom) je za 5-15% veći kod HDF u poređenju sa HD. Konvektivni transport u HDF je značajno veći u odnosu na HD, a manji u odnosu na HF (99)

Aktivno lečenje dijalizom započinje se kada je prisutan jedan ili više od navedenih poremećaja:

- Simptomi ili znaci koji se mogu pripisati hroničnoj bubrežnoj slabosti (serozitis, acidobazni ili elektrolitski poremećaji, pruritus)
- Nemogućnost kontrolisanja volumnog statusa ili krvnog pritiska obolelog.
- Progressivno pogoršanje u nutritivnom statusu koje je refrakternu na promene u načinu ishrane.
- Kognitivni poremećaji.

Do navedenih poremećaja obično dolazi kada je JGF između 5 i 10 ml/min/1,73m² (100).

Uobičajeno trajanje jednog hemodijaliznog tretmana je oko 4h, a učestalost 3 puta nedeljno. Mera doze i adekvatnosti dijalize je koeficijent Kt/V . Ovaj koeficijent predstavlja odnos klirensa uree dijalizatora (K) tokom trajanja dijalizne procedure (t) i volumena tečnosti u organizmu, u kome se urea nalazi i izračunava se prema Daugirdasovoj formuli (101). Treba težiti da je $Kt/V > 1,4$ (97).

PD je metoda za zamenu bubržne funkcije kod koje ulogu dijalizne membrane preuzima peritoneum. Preko peritoneumske membrane, koja se sastoji iz zida krvnog suda, intersticijuma i mezotelijuma, dolazi do razmena tečnosti i rastvorenih čestica između kapilarnih krvnih sudova peritoneuma i dijalizne tečnosti koja je smeštena u peritoneumsku duplju (102). Za izvođenje PD neophodni su: peritoneumski kateter, rastvor za dijalizu, sistem za spajanje i spojnica. Određena količina rastvora za dijalizu (1-3L) unosi se u abdomen preko katetera za PD, koji je sistemom za spajanje i spojnicom povezan sa kesom za rastvor. Posle difuzije i ultrafiltracije (prosečno 5-6 h), tečnost se izliva iz trbušne duplje, pri čemu se uklanjaju i toksični produkti metabolizma, kao i višak vode (103).

Prednosti PD u odnosu na HD su: obavlja se kod kuće, bez kompleksnih mašina; procedura je jednostavna i lako savladiva; omogućava slobodnije putovanje, ishranu i unos tečnosti; jeftinija je , pogodnija za decu, starije osobe, dijabetičare ili bolesnike sa kardiovaskularnom nestabilnošću; kontinuirano se odstranjuju voda i toksične materije; duže se održava rezidualna bubrežna funkcija. Nedostaci PD u odnosu na HD su: infektivne, metaboličke i mehaničke komplikacije; rizik od neadekvatne dijalize/ograničene mogućnosti za popravljavanje adekvatnosti; malnutricija; dugoročna održivost; psihički problemi povezani sa stalno prisutnim kateterom; zamor zbog kontinuirane upotrebe, naročito kod starijih osoba (102).

Relativne kontraindikacije za PD uključuju malnutriciju, brojne abdominalne adhezije, proteinuriju veću od 10g/24h, teška dijabetesna gastropareza, teška hipertigliceridemija, uznapredovala hronična obstruktivna plućna bolest, ascites, amputacija gornjih ekstremiteta, trajno loša higijena, demencija, poremećena slika sopstvenog tela, beskućnici i mali prostor u stanu za smeštaj materijala. Apsolutne kontraindikacije za PD su teška inflamatorna bolest creva, akutni divertikulitis, akutna ishemična bolest creva, abdominalni apsces, početak PD u trećem trimestru trudnoće, težak akutni psihotični ili mentalno-depresivni poremećaj, značajni intelektualni deficit (104).

Kao najefikasnija, najjeftinija i metoda koja bolesnicima omogućava najbolji stepen rehabilitacije i kvaliteta života, transplantacija bubrega je danas metoda izbora za lečenje

bolesnika u terminalnom stadijumu bubrežne slabosti (103, 105). Bubrež se može presaditi od živog davaoca ili od preminule osobe (kadaverična transplantacija) (103).

Preemptivna transplantacija bubrega sa živog donora može se razmatrati kada je JGF manja od $20 \text{ ml/min/1,73m}^2$, a postoje dokazi o trajanju progresivne i ireverzibilne HBB tokom prethodnih 6 do 12 meseci (100).

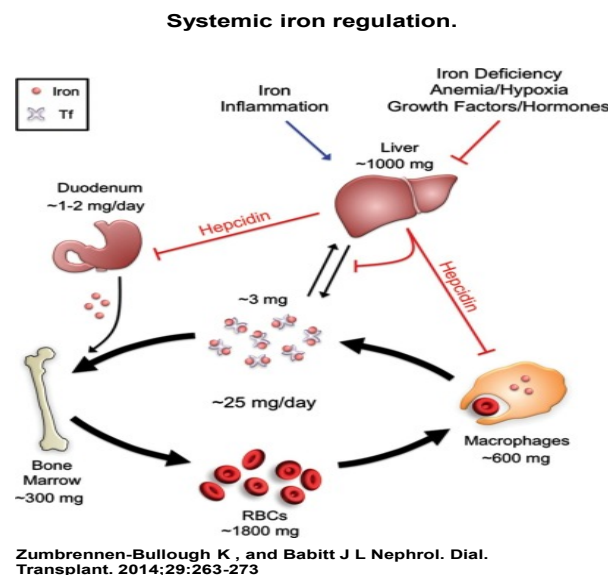
Kontraindikacije kod primaoca za transplantaciju bubrega su diseminovana maligna bolest, refrakтерна srčana insuficijencija, hronična respiratorna insuficijencija, teška vaskularna oboljenja, teške anomalije mokraćnih puteva, hronične infekcije, poremećaji koagulacije, mentalna retardacija i psihosocijalni poremećaji (103).

1.2 METABOLIZAM GVOŽĐA

Gvožđe je četvrti najzastupljeniji element zemljine kore i najzastupljeniji metal ljudskog organizma, neophodan za rast i preživljavanje. Zbog svoje jedinstvene hemijske strukture, naročito zbog sposobnosti da prima i otpušta elektrone, gvožđe je ključno za mnoge biohemijske reakcije. Ima značajnu ulogu u sintezi DNA, transportu kiseonika, ćelijskom disanju, oksidativnoj fosforilaciji i mnoge druge (106). Nedostatak gvožđa dovodi do poremećaja odbrambenih sposobnosti organizma zbog smanjenog mitogenog odgovora limfocita i poremećaja funkcije granulocita, što za posledicu ima smanjenu baktericidnu aktivnost (59). Ipak, prevelik sadržaj gvožđa u organizmu ima toksično dejstvo na ćelije, zbog mogućnosti da katalizuje stvaranje slobodnih radikala. Zbog toga su živi organizmi razvili precizne mehanizme kojima održavaju odgovarajući nivo gvožđa u ćelijama i u organizmu (106).

Gvožđe se može naći u dva oksidativna oblika: ferri (Fe^{3+}) i ferro (Fe^{2+}). U vodenim rastvorima, molekularni kiseonik oksidiše ferro u ferri oblik, da bi nastao ferri hidroksid ($\text{Fe}(\text{OH})_3$). Ferri oblik je slabo rastvorljiv pri pH 7.0, dok je rastvorljivost ferro oblika u ovakvim fiziološkim uslovima mnogo bolja (107). Da bi se izbegla toksičnost slobodnog gvožđa, kao i slaba rastvorljivost u prisustvu kiseonika i pri neutralnom pH, čovek je razvio transportni sistem i membranske nosače, kojima se gvožđe održava u solubilnom stanju pogodnom za cirkulaciju krvi, kao i za prenos preko ćelijske membrane (106, 107). Zbog nedostatka fiziološkog mehanizma za ekskreciju gvožđa iz organizma, homeostaza je regulisana absorpcijom iz creva i recikliranjem iz ostarelih eritrocita (106, 108).

Procenjuje se da u telu odraslog muškarca ima ukupno 35-45 mg gvožđa po kilogramu telesne mase. Promet gvožđa u organizmu je vrlo kontrolisan. Procenjuje se da se dnevno samo 1-2 mg gvožđa apsorbuje u dvanaestopalačnom crevu i skoro isto toliko izgubi preko deskvamacije ćelija, gubitkom krvi tokom menstrualnog krvarenja i na druge načine. Najveći deo, oko 2000 mg gvožđa nalazi se u hemoglobinu eritrocita i eritrocitnih prekurzora. U zavisnosti od pola, rezerve gvožđa iznose od 200 mg do 1500 mg i ono je smešteno u hepatocitima i makrofazima u kojima se prerađuju istrošeni eritrociti (109). Intracelularni proteini koji služe kao skladišta gvožđa su feritin i hemosiderin (107). Feritin je globularni protein koji se sastoji iz dve subjedinice: H i L. Podjedinica H, osim što učestvuje u skladištenju gvožđa, pokazuje i sposobnost za njegovu oksidaciju i ima aktivnu ulogu u eksportu gvožđa iz ćelije. (110). Za svaki molekul feritina može se vezati oko 4500 atoma gvožđa. Pri oslobađanju gvožđa iz feritina, dolazi do njegove degradacije u lizozomima i tom prilikom nastaje hemosiderin. Hemosiderin je nehomogena mešavina gvožđa, proteina i delova membrane, iz koga se gvožđe slabo mobilise (111). Za normalnu eritropoezu potrebno je oko 30mg gvožđa na dan, i ova količina se obezbeđuje recikliranjem iz eritroblasta posredstvom makrofaga (107). U mioglobinu skeletnih mišića nalazi se oko 300 mg gvožđa, oko 3 mg je vezano za transferin, a količine u ćelijskim enzimima i citohromima su minimalne (108).



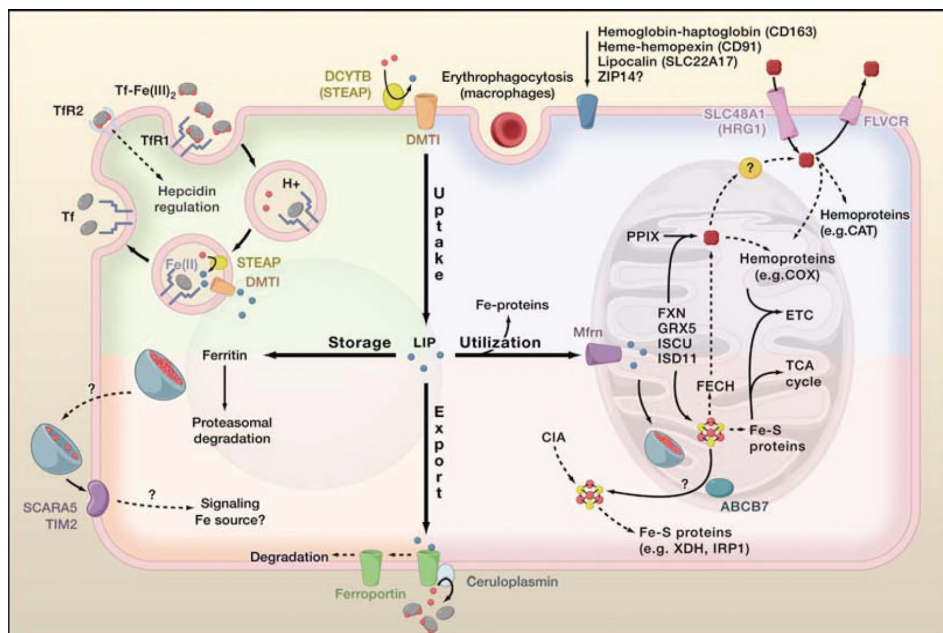
© The Author 2013. Published by Oxford University Press on behalf of ERA-EDTA. All rights reserved.

NDT
Nephrology Dialysis Transplantation

Slika 3 Sistemska regulacija metabolizma gvožđa, prema referenci 116.

Apsorpcija gvožđa je povećana u slučaju njegovog deficita, povećane eritropoezne aktivnosti i hipoksije, a smanjena je kada su zalihe gvožđa popunjene i u slučaju inflamacije. Metabolizam gvožđa regulisan je na ćelijskom i sistemskom nivou (110).

Na nivou ćelije, mehanizam regulacije se odvija preko post-transkripcione regulacije glavnih gena povezanih sa gvoždem. U citoplazmi ćelija postoje proteini koji regulišu gvožđe (IRP, od Iron regulatory proteins) i registruju njegove zalihe u ćeliji (109). Ovi proteini koordinišu ekspresiju proteina koji omogućavaju ulazak gvožđa u ćeliju (Transferinski receptori i divalentni metal jon transporter 1 (DMT1)), proteina koji služe za skladištenje (ferritin), kao i proteina koji omogućuju izlazak gvožđa iz ćelije (feroportin). Javljaju se u dva oblika, IRP1 i IRP2, koji prepoznaju i vezuju se za elemente koji reaguju na gvožđe (IRE od Iron Responsive Elements), a koji su delovi RNA gena povezanih sa metabolizmom gvožđa. (109). Do povećanog vezivanja IRP i IRE dolazi u slučajevima nedostatka gvožđa i hipoksije, a vezivanje suprimiraju gvožđe i O₂. Medijator za hipoksiju, HIF2-alfa protein, je pod kontrolom IRP1, dok IRP2 kontroliše ferritin (108). Osim zaliha gvožđa i količine O₂ u krvi, moguće je da na celularnom nivou deluje i eritropoezna aktivnost, tako što EPO direktno deluje na enterocite dvanaestopalačnog creva, preko njegovog receptora (EPO-R), dovodeći do povećane ekspresije transportera gvožđa (113).



Slika 4 Metabolizam gvožđa na ćelijskom nivou, prema referenci br 112

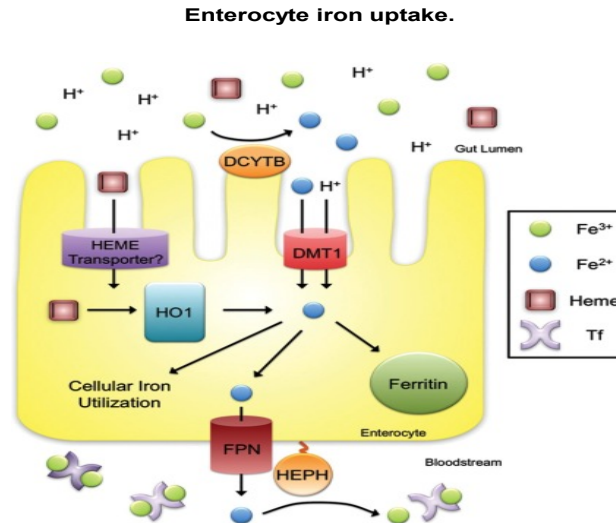
1.2.1. Intestinalna apsorpcija gvožđa

Gvožđe uneto hranom može se naći u obliku hema ili, u većoj meri, u ne-hem formi.

Ne-hem oblik je prisutan u većini namirnica: u žitaricama, povrću i mesu. (110) Ne-hem gvožđe prelazi kroz apikalnu stranu duodenalnog enterocita preko transportera za fero oblik (Fe^{2+}) DMT1 (53, 113). RNA za DMT1 ima deo za IRE, tako da u stanju deficita gvožđa, nakon vezivanja sa IRP dolazi do njene stabilizacije. (Camaschella, Strati) Kako je hranom uneto gvožđe najčešće u feri obliku (Fe^{3+}), da bi se koristilo prvo mora biti redukovano. Smatra se da tu reakciju omogućava duodenalni citohrom B (Dcyt B)(53,114).

Gvožđa u obliku hema najviše ima u mesu. (110) Absorpcija gvožđa u obliku hema se takođe odvija u dvanaestopalačnom crevu, ali je nešto slabije definisana (109). Slobodni hem je vrlo slabo rastvorljiv zbog svog hidrofobnog porfirinskog prstena. Apsorpcija hema vezanog za helatore, uključujući i arginat i albumin, može da se odvija u duodenumu, zbog pH duodenalnog soka od 5.5 do 6, što poboljšava njegovu rastvorljivost. Nedavno je otkriven transportni protein za hem (HCP 1, od Hem carrier protein), međutim, dodatnim ispitivanjima je utvrđeno da ovaj transporter mnogo efikasnije prenosi folate, te prava funkcija ovog proteina nije potpuno rasvetljena (110, 113). Moguće je da ulogu transportera hema u crevima ima protein HRG-1 (110). Kada uđe u enterocit, gvožđe se iz hema oslobađa uz pomoć hem-oksigenaze 1 (HO-1) (53).

Dalja sudbina gvožđa zavisi od trenutnih potreba organizma. Ukoliko su zahtevi za gvožđem mali, ono će ostati u enterocitu, uskladišteno u feritinu, i zajedno sa enterocitom će se deskvamacijom izgubiti iz organizma nekoliko dana kasnije. U slučaju velikih zahteva za gvožđem, ono napušta enterocit kroz bazolateralnu membranu, uz pomoć eksportera gvožđa feroportina (FPN) i hefestina koji oksidiše gvožđe u ferri jon. Kada tako nastalo trovalentno gvožđe dospe u cirkulaciju, vezuje se za nosač transferin, što omogućuje dopremanje do mesta korišćenja (53,114)



Zumbrennen-Bullough K, and Babitt J L. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2014;29:263-273

© The Author 2013. Published by Oxford University Press on behalf of ERA-EDTA. All rights reserved.

NDT
Nephrology Dialysis Transplantation

Slika 5 Intestinalna apsorpcija gvožđa, prema reference 116

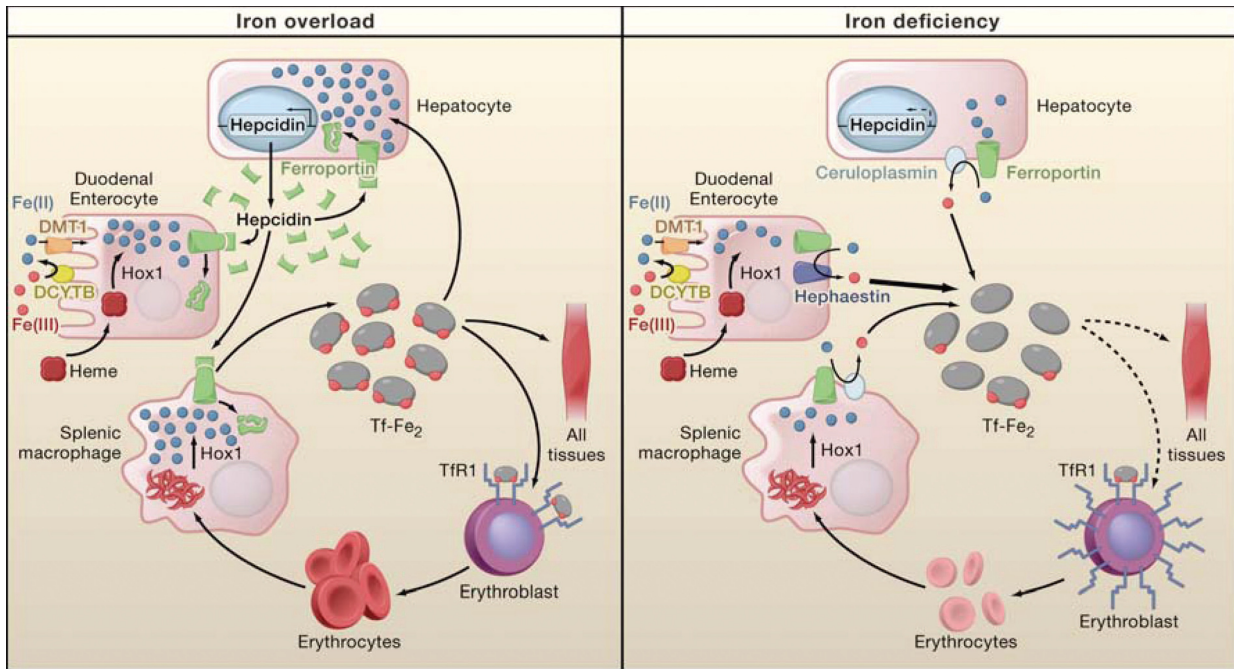
1.2.2. Recikliranje gvožđa u makrofagima

Iako je značaj recikliranja gvožđa u makrofazima ogroman, malo se zna o preciznim mehanizmima preko kojih se recikliranje odvija. Makrofagi u slezini prepoznaju stare i oštećene eritrocite i fagocitozom ih uklanjaju iz cirkulacije. Posle fagocitoze eritrocita u makrofagu dolazi do njegove lize i degradacije hema. Gvožđe se iz hema oslobađa pomoću enzima hem oksigenaze. Oslobodeno gvožđe se, u zavisnosti od potreba organizma, ili skladišti u makrofagu, ili se preko ferroportina otpušta u cirkulaciju (111). U hepatocitima i makrofagima, ulogu hefestina obavlja ceruloplazmin (109,111). Osim gvožđa iz ostarelih i oštećenih eritrocita, u makrofagima se skladišti i gvožđe uneto intravenski, u sklopu medicinskih intervencija, i to u formi gvožđe-dekstrana, gvožđe –sukroze i ferri-glukonata.

1.2.3 Hepatocitni transport gvožđa

Hepatociti su glavno mesto skladištenja gvožđa u slučaju kada ga u organizmu ima u višku. Način na koji ono uđe u hepatocit nije potpuno rasvetljen i postoji nekoliko mogućih mehanizama. Na površini hepatocita nalaze se receptori za transferin 1 (TfR1) i receptori za transferin 2 (TfR2), što omogućava vezivanje transferina i preuzimanje gvožđa, ali čini se da ni jedna ni druga vrsta receptora nije neophodna za preuzimanje gvožđa. Moguće je da su hepatociti sposobni za preuzimanje gvožđe koje je u cirkulaciji ali nije vezano za transferin, nego neki drugi ne-transferinski nosač. U slučaju kada je gvožđe neophodno osloboditi iz skladišta, ono hepatocit napušta preko feroportina (111).

Ključno mesto u sistemskoj regulaciji homeosteze gvožđa pripada nedavno otkrivenom proteinu koji se zove hepcidin (52, 53, 106, 114). Hepcidin deluje preko eksportera gvožđa feroportina, kao svog receptora. Feroportin je jedini poznati eksporter gvožđa koji se nalazi ekspresiran na svim humanim ćelijama, a najviše na enterocitima, makrofagima, hepatocitima i placenti, glavnim regulatorima distribucije gvožđa u organizmu. Nakon interakcije feroportina i hepcidina, dolazi do brze ubikvitinacije nastalog kompleksa, do njegove endocitoze i degradacije. Zbog gubitka feroportina sa ćelijske membrane, onemogućen je izlazak gvožđa iz ćelije. Hronično povišene vrednosti hepcidina dovode do hipoferemije i anemije zbog nedostatka gvožđa, dok se u slučaju nedostatka hepcidina javlja povećana apsorpcija gvožđa i njegovo vezivanje za ne-transferinske nosače, nakon čega dolazi do njegovog prevelikog skladištenja (115). Prema nekim pokazateljima, moguće je da hepcidin smanjuje apsorpciju gvožđa, smanjujući ekspresiju DMT1 na enterocitima (110).



Slika 6 Sistemska regulacija gvožđa, prema referenci br 112

Kod bolesnika sa HBB eritropoeza je značajno ograničena zbog nedostatka gvožđa, što dovodi do razvoja anemije i rezistencije na agense za stimulisanje eritropoeze (ESA). Brojni su razlozi za pojavu deficita gvožđa u ovoj populaciji bolesnika. Kod jednog dela obolelih postoji njegov istinski nedostatak, koga obeležavaju snižene vrednosti cirkulišućeg, tako i ukupnih telesnih rezervi gvožđa. Faktori koji dovode do nedostatka gvožđa su povećan gubitak krvi, povećana potrošnja gvožđa zbog upotrebe ESA i smanjena apsorpcija gvožđa unetog hranom i njegovo poremećeno otpuštanje iz telesnih rezervi. Povećan gubitak krvi nastaje zbog učestalog vađenja krvi u medicinske svrhe, zaostajanja krvi u aparatima za dijalizu, učestalog gastrointestinalnog krvarenja ili zbog oštećene funkcije trombocita koja se javlja u stanju uremije. Smanjena apsorpcija gvožđa unetog hranom nastaje zbog upotrebe određenih lekova kao što su antacidi ili vezivači fosfora ili zbog povišenih vrednosti hepcidina u krvi. Drugu grupu čine bolesnici koji imaju funkcionalni deficit gvožđa, a koji se manifestuje sniženim vrednostima cirkulišućeg gvožđa u prisustvu njegovih adekvatnih ili povećanih zaliha u organizmu. Hepcidin je i faktor koji ograničava otpuštanje gvožđa iz telesnih rezervi. Obe vrste deficita imaju za posledicu smanjenu količinu gvožđa u eritroblastima. Treću grupu čine bolesnici sa kombinacijom apsolutnog i funkcionalnog deficita gvožđa (116).

1.3 HEPCIDIN

1.3.1 Istorijat

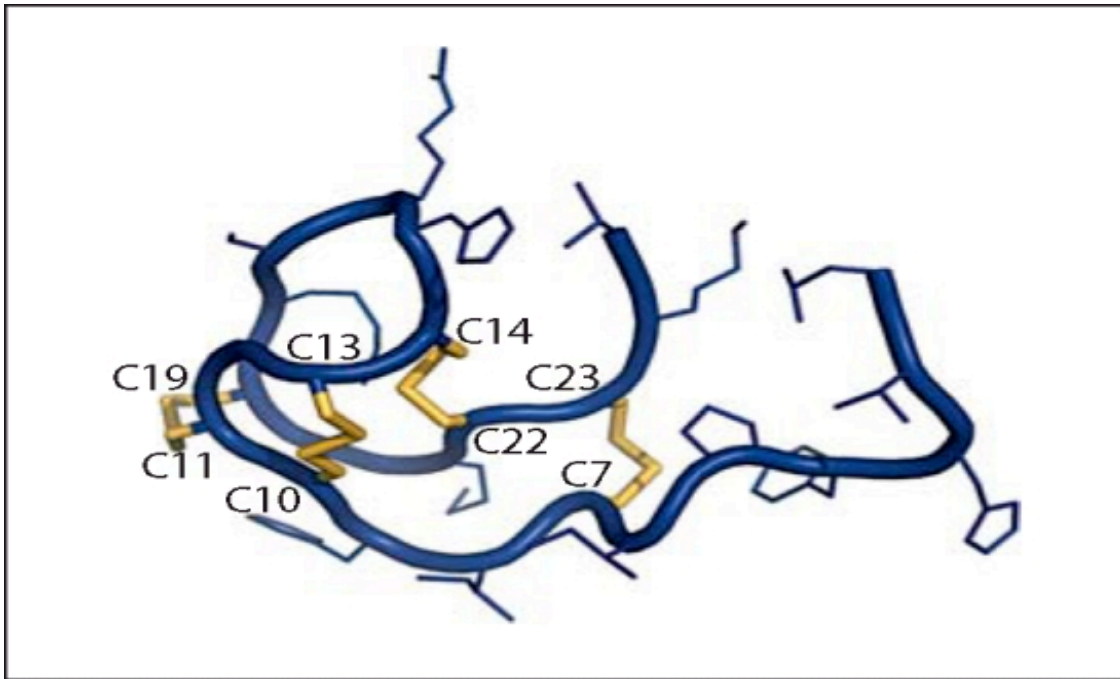
Hepcidin je mali katjonski peptid, bogat cisteinom, otkriven 2000. godine, kada je izolovan iz plazme, i nazvan liver-expressed antimicrobial peptide (LEAP-1) (117). Približno u isto vreme, u urinu je otkriven protein iste strukture, nazvan hepcidin, jer je utvrđeno da potiče iz jetre, a da *in vitro* ima baktericidno dejstvo (118). Hepcidin je član porodice antimikrobnih proteina bogatih cisteinom, koja uključuje i defensin, protein sa dokazanim antibakterijskim i antifungalnim svojstvima (117,118). Predominantno, hepcidin se stvara u jetri, a u manjim količinama može se stvarati i u bubrezima, srcu, skeletnim mišićima i mozgu. Delovi hepcidina otkriveni su i u plućima, želucu i pankreasu (106). Ispitivanja su pokazala da se hepcidin u bubrezima stvara u epitelnim ćelijama tubula i sabirnih kanala, što je ukazalo na moguću ulogu ovog proteina u regulaciji metabolizma gvožđa u okviru renalnog tubularnog sistema, verovatno zajedno sa transporterom DMT 1 (119).

1.3.2 Sinteza, struktura i eliminacija

Hepcidin je produkt HAMP gena, koji se sastoji iz tri egzona i dva introna, a nalazi se na dugom kraku hromozoma 19 (106). Saznanje da kod miševa kojima nedostaje ovaj gen dolazi do prevelikog nakupljanja gvožđa, ukazalo je na moguću ulogu hepcidina u njegovom metabolizmu (53). Transkripcijom gena nastaje 0.4 kb mRNA, a njenom translacijom prekurzor proteina od 84 amino kiseline, nazvan pre-prohepcidin, koji se oslobađa u citoplazmu. Nakon enzimskog cepanja, nastaje prohepcidin koji sadrži 64 amino kiseline, a nakon daljeg odvajanja pod dejstvom konvertaza, nastaje aktivni oblik hepcidin sa 25 amino kiselina. Osim ovog osnovnog oblika, u serumu se može detektovati i forma sa 20 aminokiselina, dok se u urinu mogu dokazati i oblici sa 20 i 22 amino kiseline. *In vitro* ispitivanja su pokazala da je za uticaj na metabolizam gvožđa neophodan N-terminalni kraj hepcidina, koji ima jedino oblik sa 25 amino kiselina, dok antibakterijalnu i antifungalnu aktivnost ima jedino oblik sa 20 amino kiselina (53, 54). Forme hepcidina sa 20 i 25 aminokiselina sadrže 8 cisteinskih ostataka, koji su međusobno povezani sa 4 disulfidne veze i strukturno podsećaju na savijenu ukosnicu (120). Dve disulfidne veze povezuju paralelne β jedinice hepcidina, a dve održavaju savijenu strukturu ovog proteina. Za vezivanje hepcidina sa njegovim receptorom feroportinom potrebno je angažovanje jedne

disulfidne veze. *In vitro* ispitivanja su pokazala da se aktivnost hepcidina ne smanjuje dramatično ako se odstrane pojedine disulfidne veze, tako da je više disulfidnih veza verovatno potrebno za ostvarenje kontakta sa ferroportinom (54). Procenjuje se da je kod čoveka telesne mase od 75kg prosečna produkcija hepcidina oko 12 mg na dan (121). Hecpidin cirkuliše u plazmi vezan za α 2-makroglobulin (122). Zbog slabog afiniteta vezivanja hepcidina za ovaj protein, u fiziološkim uslovima značajan deo hepcidina je slobodan (123). Osnovni put za eliminaciju hepcidina iz organizma je preko bubrega. Zbog svoje male molekulske mase (oko 2,7 kDa), lako se filtrira kroz glomerularnu bazalnu membranu. Kod osoba sa zdravim bubrezima postoji jasna korelacija između koncentracije hepcidina u urinu i hepcidina koji cirkuliše u plazmi. Izgleda da u fiziološkim uslovima samo 5% hepcidina, koji se filtrira iz plazme, bude izlučen urinom, što ukazuje na mogućnost da se hepcidin reapsorbuje i degradira u ćelijama proksimalnih tubula bubrega, slično drugim malim peptidnim hormonima (123). Deo hepcidina eliminiše se iz organizma i preko tkiva koja su bogata ferroportinom, degradacijom hepcidin-feroportin kompleksa. Još uvek nije potpuno razjašnjeno koliki deo hepcidina se eliminiše preko bubrega, a koliko degradacijom u ciljnim tkivima (54). Vreme poluživota hepcidina u cirkulaciji je relativno kratko i iznosi nekoliko minuta (121).

Veliko ispitivanje Galesloot i saradnika koje je obuhvatilo 1948 zdravih dobrovoljaca, utvrdilo je da je medijana serumskih vrednosti hepcidina za muškarce 7,8 nmol (P2,5-P97,5; 0,6-23,3 nmol), bez obzira na starosnu dob, za žene mlađe od 55 godina 4,1 nmol (P2,5-P97,5; 0,4-19,7 nmol), a za starije od 55 godina 8,5 nmol (P2,5-P97,5; 1,2-24,8 nmol) (124).



Slika 7 Struktura hepcidina, prema referenci 125

1.3.3 Mehanizam dejstva

Osnovne uloge hepcidina su u regulaciji metabolizma gvožđa i posredovanje u odbrani organizma i zapaljenju (106).

Nedavno je otkriveno da se hepcidin vezuje za transmembranski protein feroportin, koji je značajan za izlazak gvožđa iz ćelije. Ovaj protein nalazi se u makrofagima jetre i slezine, na bazolateralnoj strani duodenalnih enterocita, u hepatocitima i placentarnim trofoblastima koji omogućavaju prenos gvožđa fetusu tokom trudnoće (54). Feroportina ima i na eritrocitnim prekurzorima u kosnoj srži i pretpostavlja se da povećava osetljivost eritrocitnih prekurzora na nivo sistemskog gvožđa, što utiče na njihovu proliferaciju i diferencijaciju (126). Glavni put regulacije feroportina je posttranslaciona kontrola njegovog nivoa preko liganda hepcidina. Vezivanje hepcidina i feroportina dovodi do internalizacije i degradacije ovog kompleksa u lizozomima (127). Smanjenjem ekspresije feroportina na membrani makrofaga i enterocita, hepcidin dovodi do smanjenog oslobađanja odnosno absorpcije gvožđa (53, 106). Na ekspresiju feroportina, osim hepcidina, utiče i ćelijski sadržaj gvožđa, koji ima efekat i na transkripcionom i na translacionom nivou. U taj proces su verovatno uključeni proteini specifičnog IRP/IRE kompleksa (126).

Hepcidin koji se stvara u jetri je važna karika između metabolizma gvožđa, odbrane domaćina i inflamacije. Jetra ima značajno mesto u odgovoru na inflamaciju posredstvom urođenog imuniteta i stvara "proteine akutne faze", među kojima i hepcidin, a koji su uključeni u odbranu napadnutog organizma. Poznato je da je mnogim mikroorganizmima gvožđe neophodno za rast i metabolizam. Bakterije zahtevaju gvožđe za stvaranje superoksid dismutaze, enzima koji ih štiti od slobodnih radikala. Bakterije su, da bi obezbedile adekvatne količine gvožđa, su razvile siderofore, molekule sa visokim afinitetom za njegovo vezivanje, pomoću kojih ga preuzimaju iz transferina i laktoferina domaćina. Sa druge strane, domaćin je razvio nekoliko odbrambenih mehanizama koji obuhvataju povećano stvaranje transferina i feritina, smanjenu absorpciju gvožđa iz hrane, stvaranje apolaktoferina u neutrofilnim granulocitima koji odvaja gvožđe od mikroorganizma. Hepcidin dakle ispoljava antimikrobno dejstvo kao reaktant akutne faze zapaljenja, direktnim baktericidnim dejstvom, kao i svojom ulogom u sekvestraciji gvožđa unutar makrofaga.³ Ipak, *in vitro* studije su pokazale da hepcidin ima antimikrobijalna svojstva samo u vrlo visokim koncentracijama, tako da njegov značaj *in vivo* još nije potpuno razjašnjen. (54)

1.3.4 Regulacija

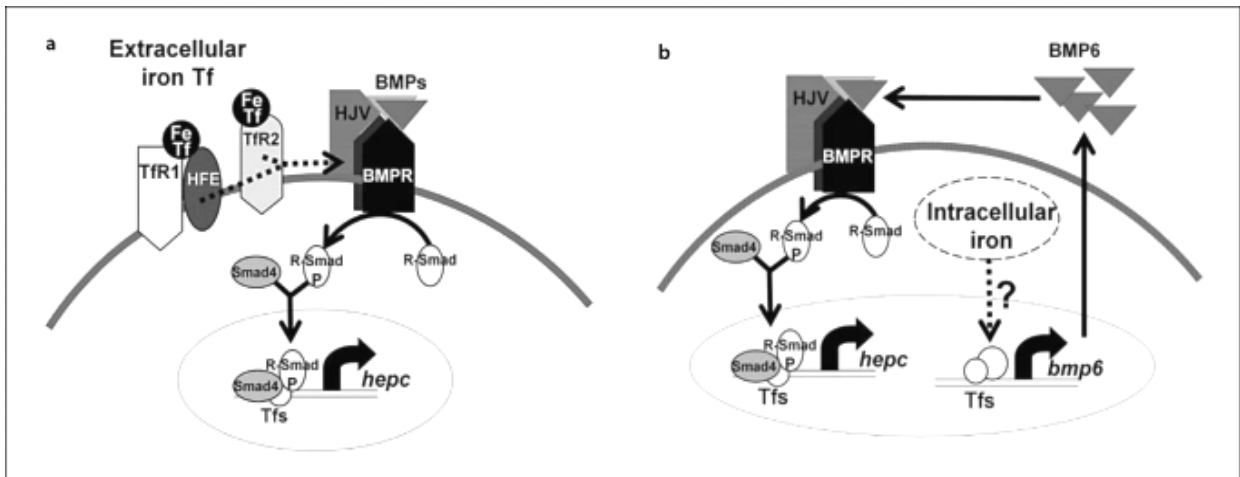
Nivo hepcidina regulisan je preko najmanje tri nezavisna mehanizma. Povećan nivo gvožđa u serumu, kao i popunjene telesne rezerve u hepatocitima, dovode do porasta produkcije hepcidina. U stanjima inflamacije povećano je stvaranje hepcidina. Povećana eritropoezna aktivnost i stanje hipoksije (anemije) dovode do smanjenog stvaranja hepcidina (128).

1.3.4.1 Uticaj gvožđa na ekspresiju hepcidina

Na regulaciju hepcidina utiču i cirkulišuće i gvožđe uskladišteno unutar ćelija. Regulacija se u oba slučaja odvija preko signalnog puta koštanog morfogenog proteina (BMP, Bone Morphogenic Protein). Ovaj put je, čini se, najvažniji u regulaciji ekspresije hepcidina (54). Receptor za BMP nalazi se na površini hepatocita i sastoji se od dve subjedinice tip I i tip II. Nakon vezivanja BMP za receptor dolazi do fosforilacije subjedinice tip II, što izaziva fosforilaciju subjedinice tip I, a to rezultira fosforilacijom citoplazmatskih Smad 1/Smad 5/Smad 8 proteina. Oni se nakon vezivanja za Smad 4 prenose do jedra, gde deluju kao faktori transkripcije (129). Porodica signalnih molekula Smad (Smad, Sma- and Mad-related protein)

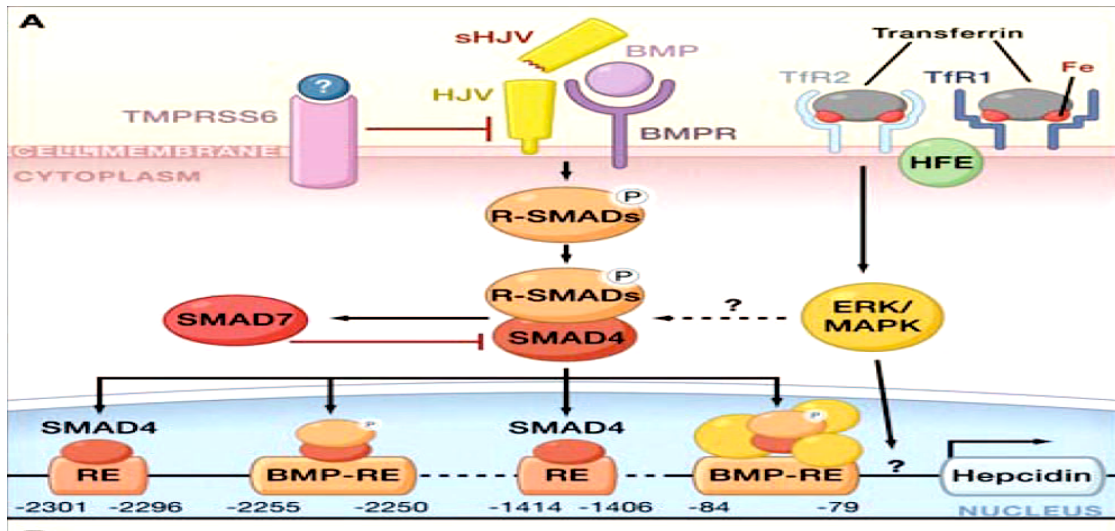
učestvuje u prenosu signala povezanih sa transformišućim faktorom rasta β (130). Na funkcionisanje BMP-Smad signalnog puta utiču različiti kofaktori, a za regulaciju metabolizma gvožđa najvažniji je hemojuvelin (HJV). Membranski HJV se vezuje za BMP i receptor BMP, zbog čega nastaje aktivni signalni kompleks HJV/BMP, što rezultira povećanom transkripcijom hepcidina (129). Osim HJV, značajni su i protein humane hemohromatoze (HFE, Human Hemochromatosis Protein) i Transferinski receptor 2 (TfR 2). TfR 2 je homolog TfR 1, receptora koji se nalazi na površini eritrocita i drugih ćelija, i koji je neophodan za preuzimanje gvožđa vezanog za transferin. TfR 2 se nalazi uglavnom u jetri i registruje nivo diferičnog transferina u plazmi. HFE je protein sličan molekulima klase I glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC, Major Histocompatibility Complex). Ovaj protein se vezuje za TfR 1 ili TfR 2 u zavisnosti od nivoa gvožđa vezanog za transferin. Kada je nivo gvožđa nizak, HFE se vezuje za TfR 1. Međutim, kada koncentracija gvožđa vezanog za transferin poraste, ono se vezuje za TfR 1 i istiskuje HFE. Tako "slobodan" HFE može da se veže za TfR2, gradeći kompleks HFE/TfR2, koji deluje kao promoter hepcidina, najverovatnije preko BMP signalnog puta (53, 54, 112, 113). Komplex HFE/TfR2 se vezuje za kompleks HJV/BMPi i time pokreće aktivaciju BMP/Smad signalnog puta (54).

Nivo hepcidina regulišu intracelularne zalihe gvožđa. Čini se da u tom procesu HFE i TfR2 nisu neophodni. Ispitivanja su pokazala da rezerve gvožđa utiču na produkciju BMP6 proteina, za sada još neutvrđenim mehanizmom. Ovaj protein se vezuje za HJV-BMPR kompleks i pokreće BMP-Smad signalni put koji dovodi do povećanog stvaranja hepcidina. Kada su zalihe popunjene, stvara se više BMP6, što dovodi do povišenih vrednosti hepcidina i prestanka dalje apsorpcije gvožđa u duodenumu. Suprotno tome, kada su rezerve niske, BMP6 se ne stvara, nema produkcije hepcidina i gvožđe se slobodno apsorbuje (54,121). Kada su zalihe gvožđa u organizmu niske i kada postoji hipoksija, dolazi do aktivacije proteaze furin. Ova proteaza oslobađa solubilni hemojuvelin (sHJV) iz hemojuvelina uskladištenog u skeletnim mićima. sHJV će dovesti do inhibicije stvaranja hepcidina i snažnog influksa gvožđa u plazmu. Povišene vrednosti gvožđa u organizmu, preko proteina neogenina, inhibišu sHJV i dovode do porasta nivoa hepcidina (53, 54).



Slika 8 Regulacija nivoa hepcidina pod uticajem ekstracelularnog i intracelularnog gvožđa, prema referenci 54

Uticaj na nivo hepcidina ima i transmembranska serinska proteaza matriptaza – 2 (TMPRSS6). Ovaj protein kodira gen TMPRSS6, a njegove mutacije postoje kod bolesnika sa sideropenijskom anemijom refrakternom na preparate gvožđa (131). Matriptaza -2 je važna komponenta koja detektuje deficit gvožđa i blokira transkripciju Hamp gena, čime je omogućena apsorpcija gvožđa u crevima (132) Prema nekim pretpostavkama, moguće je da slično furinu, TMPRSS6 deluje na odvajanje membranskog HJV i tako utiče na aktivaciju BMP-Smad signalnog puta (133). Protein neogenin *in vitro* ubrzava odvajanje HJV pod dejstvom TMPRSS6 (134).

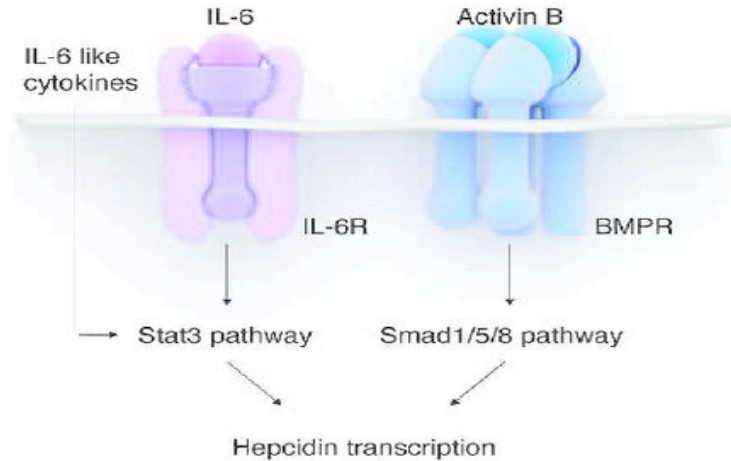


Slika 9 Regulacija nivoa hepcidina -uloga matriptaze, prema referenci 112

1.3.4.2 Uticaj inflamacije na ekspresije hepcidina

Ispitivanja uticaja inflamacije na nivo hepcidina vršena su tretiranjem mišjih i humanih hepatocita bakterijskim endotoksinima (lipopolisaharid LPS) ili peptidoglikanima, što je za posledicu imalo porast koncentracije hepcidina (128). Utvrđeno je da se regulacija nivoa hepcidina u toku inflamacije uglavnom odvija pomoću IL-6. Na površini hepatocita IL-6 se vezuje za α subjedinicu svog receptora. To dovodi do dimerizacije β subjedinica i njihove fosforilacije pod dejstvom citosolnog proteina janus kinaze (JAK), što za posledicu ima aktivaciju STAT signalnog puta (STAT, Signal Transducer and Activator of Transcription). STAT3 proteini se vezuju za β subjedinicu, od koje se nakon fosforilacije odvajaju i kao dimeri premeštaju u jedro, gde se vezuju za HAMP gen, povećavajući ekspresiju hepcidina (54, 121, 135). Onkostatin M, pripadnik porodice IL-6 citokina, takođe se povezuje sa povećanom sintezom hepcidina (136). Novija ispitivanja su dokazala da interleukin 22 (IL-22) preko STAT signalnog puta, nezavisno od IL-6, a u saradnji sa BMP signalnim putem, dovodi do indukcije hepcidina (137). Veza sa BMP-Smad signalnim putem potvrđena je i ispitivanjima uloge aktivina B, citokina iz porodice transformišućeg faktora rasta β (TGF- β od Transforming growth factor β), za koga je pokazano da snažno stimuliše produkciju hepcidina (138). Iz toga se vidi veliki značaj očuvanosti BMP signalnog puta za potpun odgovor hepcidna u stanju inflamacije (112, 137). Ispitivanja na humanim hepatocitima su pokazala da IL-1 i TNF α ne utiču na nivo hepcidina (139), iako su istraživanja na mišjim hepatocitima ukazala na mogućnost da i drugi

citokini utiču na ekspresiju hepcidina (140). Kod miševa je utvrđeno da interleukin 1 α (IL-1 α) kao i interleukin 1 β (IL-1 β) stimulatивно deluju na sekreciju hepcidina, dok interferon- β (INF- β) ima suprotno dejstvo (140).



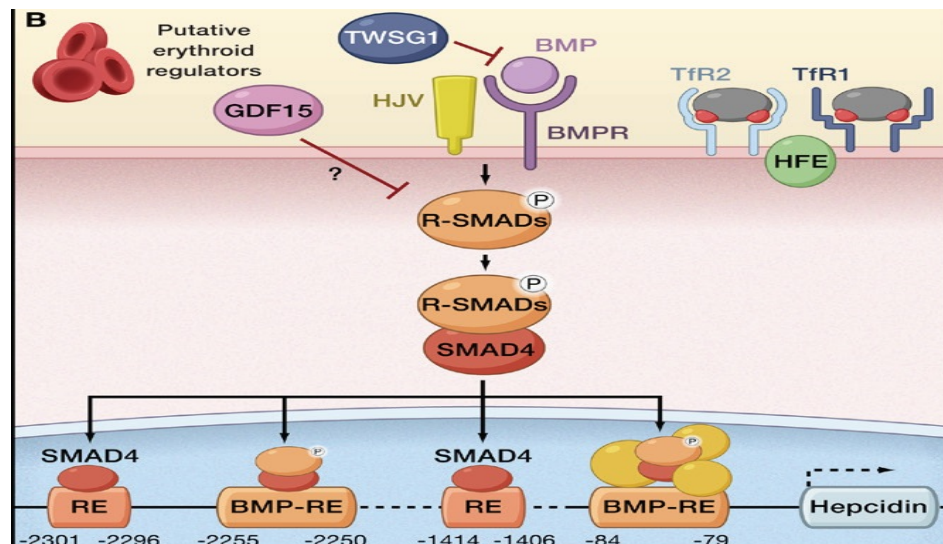
Slika 10 Uticaj inflamacije na ekspresiju hepcidina, prema referenci 121

Gojaznost se karakteriše blagim stepenom inflamacije (141). Leptin, hormon koji proizvodi adipozno tkivo, *in vitro* indukuje ekspresiju hepcidina preko JAK2-STAT3 signalnog puta. Time bi se mogao objasniti poremećaj metabolizma gvožđa koji se sreće kod gojaznih osoba (142).

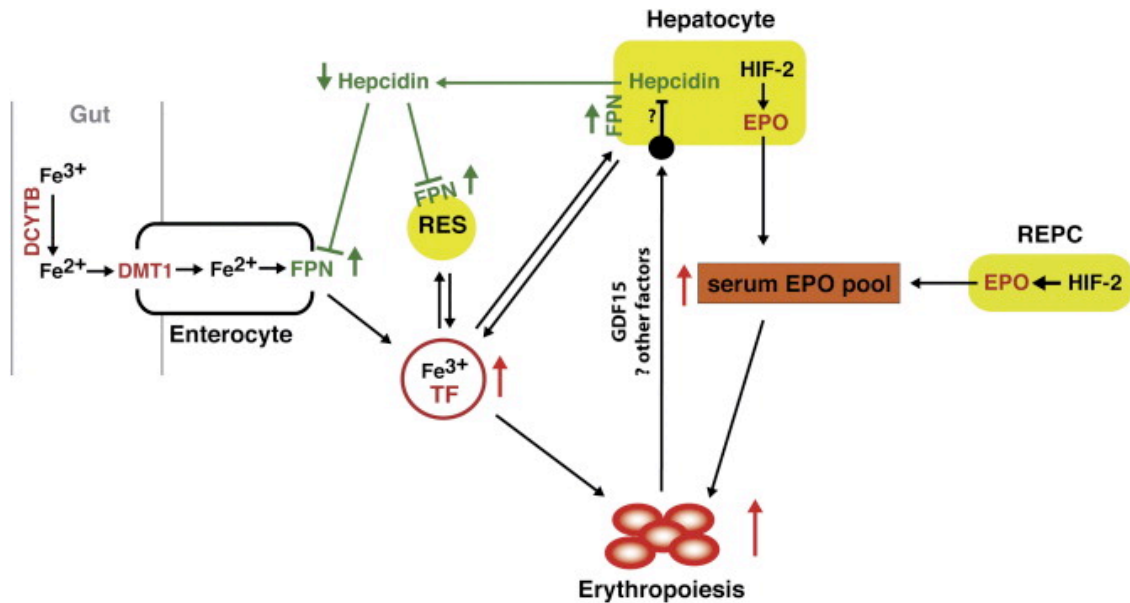
1.3.4.3 Regulacija ekspresije hepcidina u stanju hipoksije

Hipoksija smanjuje ekspresiju gena za hepcidin na nekoliko različitih načina. Hipoksija izaziva stvaranje hipoksijom indukovano faktora (HIF, Hypoxia-inducible factor) u jetri. HIF je heterodimerni transkripcioni faktor, koji se sastoji iz α (HIF-1 α , HIF-2 α i HIF-3 α) i β podjedinice (HIF-1 β). U uslovima sa dovoljno O₂ i gvožđa, HIF- α podjedinica je razgrađena. Kada je prisutna hipoksija i manjak gvožđa, dolazi do nakupljanja HIF- α podjedinice, njene translokacije u jedro, heterodimerizacije sa HIF-1 β i njihovog vezivanja za promoterni element osetljiv na hipoksiju na ciljnom genu, čiju transkripciju onda izaziva (143). Ispitivanja su pokazala da niti HIF-1 niti HIF-2 transkripcioni faktori ne deluju direktno na ekspresiju HAMP gena i sintezu hepcidina (144). HIF deluje indirektno na smanjenje nivoa hepcidina jer se pod uticajem HIF-2 transkripcionog faktora stimuliše stvaranje eritropoetina u bubrezima (145). Inhibitorno dejstvo HIF će se ispoljiti samo u slučaju adekvatnog odgovora kosne srži na eritropoetin, odnosno nakon efektivne

eritropoeze. Neefektivna eritropoeza ne suprimira HAMP gen za hepcidin (144). Eritropoetin stimuliše proliferaciju eritrocitnih perkurzora, koji luče različite ‘eritroidne faktore’, a koji dovode do smanjenog stvaranja hepcidina u jetri (121). Kao potencijalni faktori koji suprimiraju produkciju hepcidina u anemijama sa neefektivnom eritropoezom navode se faktor rasta i diferencijacije 15 (GDF 15, Growth Differentiation Factor 15) i izuvijani gastrulacioni protein 1 (TWSG 1, twisted gastrulation protein 1) GDF 15, pripadnik superfamilije transformišućeg faktora rasta β , u vrlo visokim koncentracijama, kakve se sreću u β talasemiji i u kongenitalnoj diseritropoetskoj anemiji tip I, može *in vitro* suprimirati mRNA hepcidina. Ispitivanja na miševima su pokazala da TWSG1 interferira sa BMP signalnim putem i na taj način utiče na regulaciju sinteze hepcidina (54, 112). Eritropoeza se smatra najjačim inhibitorom ekspresije hepcidina (146). Moguće je da eritropoetin ostvaruje i direktno dejstvo na ekspresiju HAMP gena (147). Osim toga, hipoksija deluje na ekspresiju proteina furina, koji preko hemojuvelina deluje na BMP-Smad signalni put, što za posledicu takođe ima smanjenje nivoa hepcidina (148). Slično tome, hipoksija deluje i na stvaranje matriptaze -2, proteina koji zaustavlja transkripciju HAMP gena. Inhibitorom uticajem na HFE, TfR-1, TfR-2 i HJV, hipoksija preko HIF utiče na smanjeno stvaranje hepcidina (145). U anemiji dakle nivo hepcidina opada, njegovo inhibitorno dejstvo se smanjuje, a više gvožđa postaje raspoloživo za eritropoezu, što zbog njegove povećane apsorpcije unetog hranom, što zbog oslobađanja iz skladišta u makrofazima i hepatocitima (53, 106,149).



Slika 11 Uloga GDF 15 i TWSG1 u regulaciji hepcidina, prema regerenci 112



Slika 12 Uticaj eritropoetina na ekspresiju hepcidina, prema referenci 145

1.3.5 Uloga hepcidina u bolesnim stanjima

1.3.5.1 Poremećaji zbog deficita ili rezistencije na hepcidin

Klinički poremećaji koji nastaju zbog deficita ili rezistencije na hepcidin su nasledna hemohromatoza i anemija sa prevelikim nakupljanjem gvožđa odnosno neefektivnom hematopoezom.

1.3.5.1.1 Hereditarna hemohromatoza

Hereditarna hemohromatoza je nasledni poremećaj u metabolizmu gvožđa. Usled nedovoljnog stvaranja hepcidina u hepatocitima, dolazi do prevelike apsorpcije gvožđa u duodenumu. Kako u ljudskom organizmu ne postoji mehanizam za efektivno izlučivanje viška

gvožđa, dolazi do njegovog prevelikog nakupljanja u tkivima. To za posledicu ima oštećenje tkiva i poremećaj funkcije zahvaćenih organa. Javlja se u dve forme: težoj juvenilnoj, sa vrlo malo ili čak ni malo hepcidina u plazmi i nešto blažoj adultnoj formi (123).

1.3.5.1.2 Anemije sa prevelikim nakupljanjem gvožđa

Anemije sa viškom gvožđa mogu biti posledica više faktora: defektne sinteze hema, neefektivne hematopoeze, hemolize, nedovoljne iskorištenosti gvožđa. Kod anemija sa neefektivnom hematopoezom dolazi do apoptoze eritrocitnih prekurzora. Anemija koja nastaje zbog toga stimuliše produkciju eritropoetina, ali to ne dovodi do korekcije anemije. Usled visokog nivoa eritropoetina, nivo hepcidina je nizak, što za posledicu ima preveliku apsorpciju gvožđa u dvanaestopalačnom crevu i njegovo taloženje u tkivima i organima. Ukoliko se oboleli redovno leče transfuzijama krvi, a bez primene helatora gvožđa, takođe dolazi do njegovog nakupljanja u tkivima i organima. U ovom slučaju nivo hepcidina je normalan ili čak povišen iako još uvek nedovoljan s obzirom na opterećenje gvožđem (123).

1.3.5.2 Poremećaji zbog visokih vrednosti hepcidina ili deficita feroportina

Klinički poremećaji koji nastaju zbog visokih vrednosti hepcidina ili deficita feroportina uključuju anemiju sa smanjenim sadržajem i refrakternošću na gvožđe, anemija u inflamaciji, anemija u hroničnoj bolesti bubrega, anemija u malignim bolestima i feroportinska bolest.

1.3.5.2.1 Anemija sa smanjenim sadržajem i refrakternošću na gvožđe

Ovaj oblik anemije nastaje zbog prevelike produkcije hepcidina. Kod ljudi se kao mogući uzroci navode redak adenom jetre koji nekontrolisano stvara hepcidin, ili češće zbog autonomno-recesivnog poremećaja gena koji kontroliše membransku proteazu matriptazu-2. Kao posledica ovih poremećaja, uprkos niskim rezervama gvožđa u organizmu, koje bi u fiziološkim uslovima suprimirale stvaranje hepcidina, kod ovih bolesnika je nivo hepcidina normalan ili čak povišen (123).

1.3.5.2.2 Anemija u inflamaciji

Ovaj oblik anemije se javlja kod obolelih od hroničnih infektivnih bolesti, reumatskih oboljenja i hroničnih inflamatornih bolesti creva. Po svojim karakteristikama to je obično blaga do umerena normocitna i normohromna anemija, ali po nekada i mikrocitna i hipohromna anemija, obično rezistentna na terapiju gvoždem. Pored povišenih vrednosti hepcidina koje su registrovane kod obolelih od ovog oblika anemije, na težinu kliničke slike utiču i skraćen životni vek eritrocita zbog makrofagne aktivacije ili opsonizacije eritrocita, supresija eritropoeze zbog dejstva citokina na eritrocitne prekurzore ili zbog smanjenog stvaranja eritropoetina (123).

1.3.5.2.3 Anemija u hroničnoj bolesti bubrega

Anemija je učestao poremećaj, koji u terminalnom stadijumu bubrežne insuficijencije zahvata gotovo sve obolele (45). Nastanku anemije doprinosi više faktora, a najvažniji su nedostatak eritropoetina i poremećaj u metabolizmu gvožđa (49). Kako se hepcidin smatra centralnim regulatorom metabolizma gvožđa, u više navrata je ispitivana njegova uloga u nastanku anemije u sklopu HBB. Sprovedenim ispitivanjima potvrđene su povišene vrednosti hepcidina kod obolelih od HBB (150, 151). Smatra se da su povišene vrednosti hepcidina posledica prevelike produkcije usled pormećenog metabolizma gvožđa i hronične inflamacije, kao i smanjenog izlučivanja zbog sniženog renalnog klirensa (152). Nivo hepcidina u serumu povezan je sa anemijom kod bolesnika na hroničnom programu HD (150, 153).

1.3.5.2.4 Anemija kod malignih bolesti

Anemija je čest poremećaj kod obolelih od malignih bolesti. Dobro poznati uzroci koji dovode do pojave anemije su osobine same maligne bolesti, gubitak krvi, malnutricija, infiltracija kosne srži malignim ćelijama ili terapijske procedure (123). Kod nekih maligniteta, kao što su Hodgkinova bolest (154) i multipli mijelom (155), dokazan je i porast nivoa hepcidina pod uticajem inflamatornih citokina.

1.3.5.2.5 Ferroportinska bolest

Ferroportinska bolest je poremećaj nastao zbog autozomno-dominantnih mutacija gena za ferroportin, što dovodi ili do smanjenog stvaranja ferroportina, ili do poremećaja njegovog membranskog prenosa. Manifestuje se značajno povišenim vrednostima feritina, normalnom ili niskom saturacijom transferina i nakupljanjem gvožđa pretežno u makrofazima. Obično je

klinički nema, a do egzacerbacije mogu dovesti bolesti jetre poput alkoholne bolesti i hepatitisa C. (123)

1.3.6 Terapijske mogućnosti u lečenju poremećaja hepcidina

Obzirom na centralnu ulogu koju ima u metabolizmu gvožđa, povišene ili snižene vrednosti hepcidina sreću se kod velikog broja bolesti. Zbog toga raste uverenje da bi agonisti ili antagonisti hepcidina mogli biti nova, potencijalno korisna terapijska opcija u kliničkoj praksi (115, 121). Genetska ispitivanja sprovedena na životinjama potkrepljuju takvo stanovište. (121)

1.3.6.1 Agonisti hepcidina

Niske vrednosti hepcidina povezane su sa prevelikim nakupljanjem gvožđa u organizmu, što se sreće u bolestima poput nasledne hemohromatoze ili β -talasemije. Zbog farmakoloških osobina hepcidina, odnosno kratkog vremena poluživota i komplikovanih disulfidnih veza, sinteza bioaktivnog hepcidina je teška i skupa. Zbog toga su u fazi ispitivanja produkti koji imitiraju dejstvo hepcidina ili stimulišu njegovu produkciju. (121)

Minihepcidini su agonisti hepcidina sa peptidnom osnovom, koji sadrže N-terminalni deo hepcidina sa 9 aminokiselina, koji je odgovoran za njegovu aktivnost. Obradom ovog molekula, odnosno dodavanjem neprirodnih aminokiselina i masnih kiselina, povećana je rezistencija na proteolizu i produžen poluživot u cirkulaciji. Ispitivanja na miševima su pokazala da su minihepcidini korisni u prevenciji nakupljanja gvožđa u organizmu, a da u saradnji sa flebotomijom i helatorima gvožđa pomažu u lečenju već postojećeg poremećaja sa prekomernim nakupljanjem ovog metala (115,121).

Kao stimulatori proizvodnje hepcidina ispituju se antagonisti matriptaze -2 i agonisti BMP6. Matriptaza -2 je negativni regulator hepcidina, koji utiče odvajanje membranskog HJV i tako zaustavlja na aktivaciju BMP-Smad signalnog puta (133). Ispitivanja na miševima su pokazala da antagonizovanjem njegovog dejstva dolazi do poboljšanja anemije i smanjenja taloženja gvožđa (156). Drugi pokušaj je aktivacija BMP-Smad signalnog puta direktno pomoću BMP6 ili njegovim agonistima. Iako bi to u načelu dovelo do povišenih vrednosti hepcidina,

zbog brojnih drugih uloga koje ovaj signalni put ima, a koje uključuju morfogenezu kosti, ćelijski rast, diferencijaciju i apoptozu, angiogenezu i tumore, potrebna su obimna dodatna ispitivanja (115).

1.3.6.2 Antagonisti hepcidina

Povišene vrednosti hepcidina sreću se kod anemije u HBB, anemiji inflamacije, anemiji sa deficitom i refrakternošću na gvožđe, kao i kod anemija kod nekih maligniteta. Visoke vrednosti hepcidina utiču na terapijski efekat koji se postiže primenom agenasa za stimulaciju eritropoeze ili parenteralnim preparatima gvožđa. Smanjenje efekta hepcidina moglo bi se postići smanjenjem njegove produkcije, direktnom neutralizacijom hepcidina ili blokiranjem vezivanja hepcidina za feroportin (115).

Delovanje na BMP-Smad signalni put, koji je od krucijalnog značaja za produkciju hepcidina, može se ostvariti na više načina. Heparin, dobro poznati antikoagulantni lek, može da dovede do sekvestracije BMP i time do smanjenja koncentracije hepcidina. Osim toga, heparin ima i antiinflamatorno dejstvo, čime takođe može uticati na nivo hepcidina (157). Supresivno dejstvo na nivo hepcidina preko inhibicije BMP-Smad signalnog puta, imaju i fuzioni protein sHJV.Fc i inhibitor BMP tip I receptora, derivat dorzomorfina LDN-193189 (115, 121).

Monoklonska antitela koja blokiraju IL-6 ili njegov receptor (IL-6 R), blokadom inflamatornog puta regulacije hepcidina, dovode do smanjenja njegove koncentracije. Slično tome, monoklonska antitela protiv faktora nekroze tumora α (TNF- α od engl. tumor necrosis factor - α) dovode do smanjenja nivoa hepcidina kod obolelih od reumatoidnog artritisa (115).

Visoke doze eritropoetina mogu suprimirati hepcidin (158). Na nivo hepcidina utiču i inhibitori prolil hidroksilaze, za koje je pokazano da stabilizuju HIF i povećavaju sintezu eritropoetina kod bolesnika na hroničnom programu HD (159).

Novi pristup predstavlja i genska terapija. Ovom vrstom terapije deluje se na transkripciju ili translaciju gena za hepcidin. U tu svrhu se ispituju antisens oligonukleotidi i siRNA (od Short interference ribonucleic acid) za hepcidin, HJV i TfR2 (115, 160).

U fazi ispitivanja su tri metode kojima se može neutralisati aktivnost hepcidina. To su monoklonska antitela protiv hepcidina, antikalini i spiegelmeri (od spiegel = ogledalo) Antikalini su mali proteini dobijeni iz lipokalina, koji se vezuju za hepcidin i time neutrališu njegovu funkciju. Spiegelmeri su derivati aptamera koji imaju poželjne farmakološke osobine jer su

otporni na degradaciju nukleazama, stabilni u cirkulaciji, imunološki neutralni i generalno se dobro podnose. *In vitro* je dokazano da imaju visok afinitet za vezivanje za hepcidin i da blokiraju degradaciju ferroportina indukovanu hepcidinom. (115, 160). Osnovni nedostatak svih molekula koji se vezuju za hepcidin i time ga neutrališu je njihova velika molekulska masa koja bi mogla da utiče na prirodni put eliminacije hepcidina i time bi mogla doprineti daljem nakupljanju ovog molekula, kao i velika doza leka koja bi morala biti primenjena intravenski. Međutim, čak i delimično ili povremeno blokiranje aktivnosti hepcidina moglo bi biti dovoljno za postizanje željenog terapijskog efekta (115).

U korekciji funkcionalnog deficita gvožđa, osim smanjenja stvaranja hepcidina i blokiranja njegove aktivnosti, značajni bi mogli biti i agensi koji bi stabilizovali ferroportin na površini ćelija (160). Humanizovano anti-feroportin monoklonsko antitelo sprečava vezivanje hepcidina za njegovu ciljnu molekulu, a ne utiče na promet gvožđa kroz ferroportin. I drugi proteini, poput fursultiamina, sprečavaju vezivanje hepcidina za ferroportin. Nešto drugačiji potencijalni pristup bi bilo sprečavanje endocitoze ferroportina ili stimulisanje njegovog stvaranja ali su ovakva istraživanja još u ranim fazama (115).

CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA

Ciljevi istraživanja bili su:

- Odrediti serumski nivo hepcidina kod bolesnika lečenih hroničnim programom hemodijalize.
- Utvrditi povezanost između nivoa hepcidina u serumu i parametara inflamacije (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein i interleukin 6).
- Utvrditi povezanost između nivoa hepcidina u serumu i parametara statusa gvožđa u organizmu (gvožđe u serumu, transferin i feritin).
- Utvrditi povezanost između nivoa hepcidina u serumu i odgovora na agens koji stimuliše eritropoezu.

Postavljene su sledeće radne hipoteze:

1. Postoji pozitivna korelacija između nivoa hepcidina u serumu i parametara inflamacije
2. Postoji pozitivna korelacija između nivoa hepcidina u serumu i pokazatelja telesnih rezervi gvožđa.
3. Postoji negativna korelacija između nivoa hepcidina u serumu i odgovora na agens koji stimuliše eritropoezu.

3. MATERIJAL I METODE ISPITIVANJA

Ispitivanjem je obuhvaćeno 77 bolesnika obolelih od hronične bubrežne slabosti, koji su tokom 2013. i 2014. godine lečeni na Odeljenju za hemodijalizu Klinike za nefrologiju i kliničku imunologiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu. Svi ispitanici su lečeni hroničnim programom hemodijalize tokom najmanje 3 meseca, 3 puta nedeljno po 4 sata. U ispitivanje su uključeni samo oni bolesnici za koje smo, na osnovu uvida u medicinsku dokumentaciju, smatrali da imaju stabilne telesne rezerve gvožđa, te da sideropenija nije uzrok anemije, koji su bili bez kliničkih znakova akutne inflamacije, i nisu primali antibiotsku terapiju najmanje 6 nedelja od vađenja krvi. Iz ispitivanja su isključeni bolesnici koji su primali preparate gvožđa unutar dve nedelje od ispitivanja, bolesnici sa teškim hroničnim oboljenjem jetre, sa dokazanom malignom bolešću, koji su dobijali medikamente koji mogu uticati na nivo hepcidina, kao i bolesnici kod kojih su prisutni drugi uzroci anemijskog sindroma.

Za prikupljanje neophodnih podataka korišten je originalni upitnik.

Podaci su dobijeni anamnezom, fizikalnim pregledom (merenje krvnog pritiska pomoću ručnog manometra i antropometrijskim merenjem TV i TM), analizom medicinske dokumentacije i laboratorijskim ispitivanjima. Indeks telesne mase (BMI) smo izračunali prema formuli: $TM (kg)/TV (m^2)$. Pothranjenima smo smatrali bolesnike sa vrednošću BMI <18,4; normalno uhranjeni su imali BMI od 18,5 do 24,9; prekomernu telesnu masu imaju bolesnici sa BMI od 25 do 29,9, a gojazni BMI >30.

Indeks Kt/V izračunavali smo pomoću formule: $Kt/V = -\ln(R - 0.008 * t) + (4-3.5 * R) * UF/W$, gde je R odnos urea preHD/urea posle HD, t je vreme trajanja dijalizne procedure, UF je volumen tečnosti koji se ultrafiltrira tokom dijalize procedure, a W je TM posle dijalizne procedure (Daugirdas 1993). Adekvatnim smo smatrali vrednosti preko 1,3.

Krv je vađena neposredno po započinjanju hemodijalizne procedure u sredini nedelje (sredom ili četvrtkom). Dobijeni uzorci su ili odmah slati na odgovarajuće laboratorijske analize, ili su, kao u slučaju hepcidina i interleukina 6, nakon centrifugiranja zamrzavani na -80° odnosno $-20^{\circ}C$ respektivno, do prikupljanja svih potrebnih uzoraka, te nakon toga laboratorijski analizirani. Krvni pritisak i telesna masa bolesnika mereni su neposredno pre započinjanja dijalizne procedure.

Materijal i metode ispitivanja

Kompletna krvna slika određivala se metodom protočne citometrije na aparatu Cell Dyn Sapphire (Abbott), uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Fiziološkim vrednostima eritrocita kod muškaraca su smatrane vrednosti od 4,2 do 6,0 x10¹²/l, a kod žena od 3,9 do 5,4 x10¹²/l. Fiziološke vrednosti hemoglobina kod muškaraca su od 130 do 160g/l, i kod žena od 120 do 150 g/l, a hematokrita od 0,4 do 0,54/l kod muškaraca i od 0,37 do 0,47/l kod žena. Fiziološke vrednosti MCV su od 82 do 98x10⁻¹⁵ l, MCH od 27d do 32 x10⁻¹² l i MCHC 310-350 g/l. Normalan broj retikulocita se kreće od 18,5 do 116 x10⁹/l, leukocita od 4 do 10 x10⁹/l, a trombocita 140-400 x10⁹/l.

Urea, kreatinin i mokraćna kiselina određivani su kinetičkim UV testom, na aparatu Abott Architect c 8000 uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Fiziološkim vrednostima su smatrane: urea od 2,5 do 7,5 mmol/l; kreatinin od 50 do 115µmol/l za muškarce i od 44 do 98 µmol/l za žene; mokraćna kiselina od 208 do 428 µmol/l za muškarce i od 115 do 357 µmol/l za žene. Reidualna diureza je određivana nakon 24h skupljanja urina bolesnika danima kad nije na programu dijalize. Fiziološkom vrednosti smo smatrali od 1,5 do 2,0 l.

Bilirubin ukupni i direktni određivani su kolorimetrijskom diazo- reakcijom, a alkalna fosfataza, AST, ALT i gama-GT kinetičkim UV testom na aparatu Abott Architect c 8000 uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Bilirubin ukupni: 3-21 µmol/l; Bilirubin direktni: 0,1-8,0 µmol/l; Alkalna fosfataza: 30-115 U/l; ALT: muškarci <45 i žene <34 U/l; AST: muškarci <35 a žene <31U/l; Gama- GT: muškarci od 1do 55 i žene od 1 do 38 U/l.

Elektroforeza serumskih proteina određivana je na agoroznom gelu na aparatu Sebia. Fiziološkim vrednostima se smatraju: ukupni proteini: 60-80g/l; albumini: 35-55 g/l; Alfa -1 globulini: 0,7-2,6 g/l; Alfa -2 globulini: 4,3-9,4 g/l; Beta -1 globulini: 3,9-9,2 g/l; Beta -2 globulini: 1,5-5,8g/l; Gama globulini 4,3-15,6g/l; A/G indeks 0,8-2,0.

Lipidski status (ukupni holesterol, HDL holesterol, LDL holesterol i ukupni trigliceridi) određivani su sandardnim enzimskim postupom uz korišćenje reagenasa firme Clinical Chemistry Abbott Architect ci 4100. Indeks ateroskleroze izračunat je prema formuli: LDL/HDL. Fiziološkim vrednostima su smatrane: Ukupni holesterol: 2,6-5,2 mmol/l; ukupni trigliceridi: 0,1-1,7 mmol/l; HDL holesterol 1,6-3,88 mmol/l; LDL holesterol: 2,07-3,4 mmol/l; indeks ateroskeroze: 0-3.

Gvožđe u serumu određivano je kolorimetrijskom reakcijom, a feritin i transferin imunoturbidimetrijski na aparatu Abbott Architect c 8000 uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa (TIBC) je matematički izračunat prema

Materijal i metode ispitivanja

formuli: Transferin x25 (161), a procenat saturacije transferina (TSAT) je izračunat prema formuli: serumsko Fe x100/TIBC. Fiziološkim vrednostima su smatrane: gvožđe od 12,5 do 32,5 ($\mu\text{mol/l}$); feritin: 20-300 $\mu\text{g/l}$; transferin 2,0-3,6 g/l, TIBC 45-66 $\mu\text{mol/l}$; TSAT: muškarci od 20 do 50 %; žene: od 15 do 50 %

Sedimentacija eritrocita određivana je metodom po Westergreenu. Fibrinogen je određivan metodom po Clausu. C-reaktivni protein određivan je imunoturbidimetrijski na aparatu Abbott Architect c 8000 uz korišćenje komercijalnih setova istog proizvođača. Interleukin 6 određivan je ELISA metodom pomoću komercijalnog kita Quantikine ELISA Human IL-6 Immunoassay, R&D Systems, Inc. UK. Fiziološkim vrednostima sedimentacije eritrocita se smatraju 8/16 mm/h; fibrinogena 2,2-4,96 g/l, a CRP 0-5 mg/l. Prema ispitivanjima proizvođača kita korištenog za određivanje IL-6, srednje vrednosti IL-6 kod zdravih dobrovoljaca su se kretale od < 3,13 pg/ml do 12,5 pg/ml.

Iz medicinske dokumentacije dobijeni su podaci o vrsti i dužini lečenja agensom za stimulaciju, kao i o prosečnoj nedeljnoj dozi. Indeks rezistencije na eritropoetin (ERI) je izračunat preko formule: $\text{ERI} = \text{prosečna nedeljna doza ESA/kg TM} / \text{vrednost hemoglobina (g/dl)}$. Odnos između doza dugodelujućih i kratkodelujućih ESA izračunavan je prema formuli: 1 μg dugodelujućih ESA odgovara 200 IJ kratkodelujućih ESA (162).

Hepcidin u serumu određivan je korišćenjem komercijalnog DRG Hepcidin-25 ELISA kita, DRG Instruments GmbH, Germany, koji se zasniva na principu kompetitivnog vezivanja. Za registrovanje rezultata korišten je ELISA čitač Microplate reader Rayto. Zidovi kita obloženi su mišjim, monoklonskim antitelima na antigensko mesto molekule Hepcidin-25. Endogeni Hepcidin-25 iz ispitivanih bolesničkih uzoraka takmiči se sa Hepcidin-25 biotin konjugatom za vezivanje na fiksirana antitela. Nakon inkubacije, nevezani konjugat se ispira, a dodaje se streptavidin-peroksidaza enzimski kompleks. Nakon inkubacije, nevezani enzim se ispira, a dodaje se substratna solucija. Nakon kratkog vremena inkubacije, dodavanjem "stop" rastvora razvoj plave boje se zaustavlja i pretvara u žutu. Intenzitet razvijene boje je obrnuto proporcionalan koncentraciji Hepcidina u bolesničkom uzorku. Dobijene vrednosti izražene su u ng/ml. Očekivane vrednosti hepcidina u serumu u zdravoj populaciji za kit koji je korišćen u ispitivanju, prema preporuci proizvođača, kretale su se od 1,0 do 39,3 ng/ml, bez obzira na pol ispitanika. Faktor konverzije jedinica je: 1 ng = 0,358 nmol.

Dobijeni podaci su statistički obrađeni korišćenjem statističkog programa MedCalc i Microsoft Excel. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Numerički podaci su prikazani putem

Materijal i metode ispitivanja

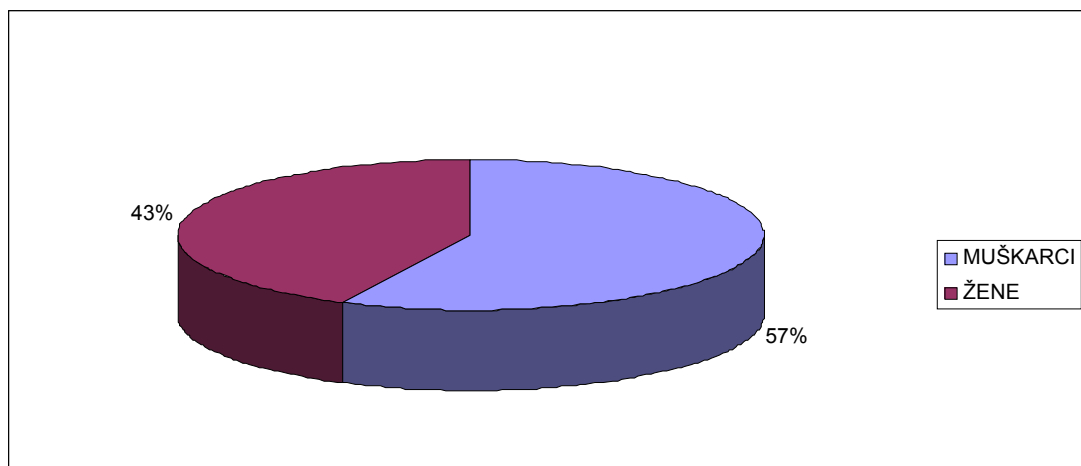
srednjih aritmetičkih vrednosti i standardnih devijacija i medijane. Komparacije su vršene Studentovim t-testom, Mann Whitney testom. U analizi jednosmernih korelacija korišćeni su Pearsonov, Spearmanov i Kendallov korelacioni koeficijent. Od metoda multivarijantne analize korišćene su multipla i logistička regresija. Statistička značajnost je definisana nivoom od $p \leq 0,05$.

4. REZULTATI ISPITIVANJA

Sprovedenim ispitivanjem je obuhvaćeno 77 bolesnika obolelih od hronične bubrežne slabosti, koji su tokom 2013. i 2014. godine lečeni na Odeljenju za hemodijalizu Klinike za nefrologiju i kliničku imunologiju, Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu. Svi bolesnici su praćeni najmanje tri meseca pre uključenja u ispitivanje.

4.1.POLNA STRUKTURA

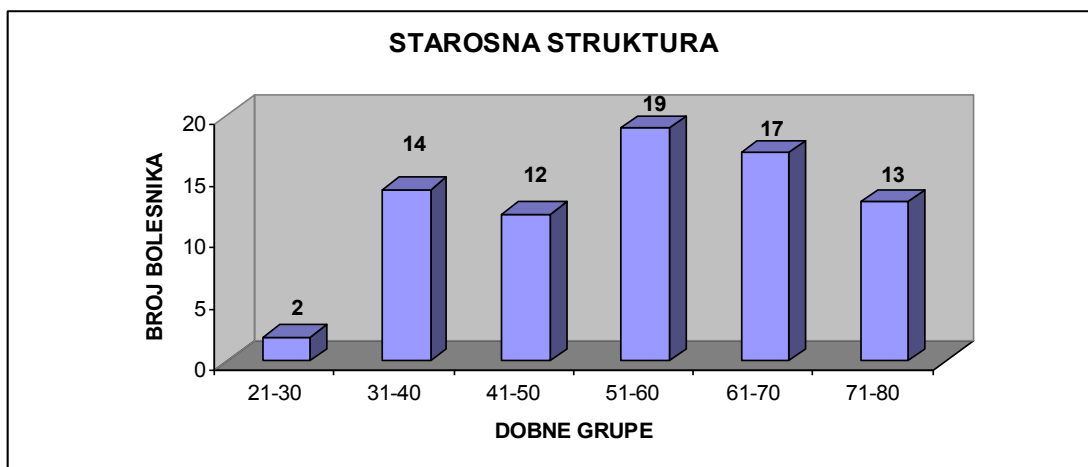
U ispitivanje su uključena 44 bolesnika muškog pola i 33 ženskog pola. Polna struktura prikazana je na grafikonu 4.1.



grafikon 4.1 Polna struktura ispitanika

4.2 STAROSNA STRUKTURA

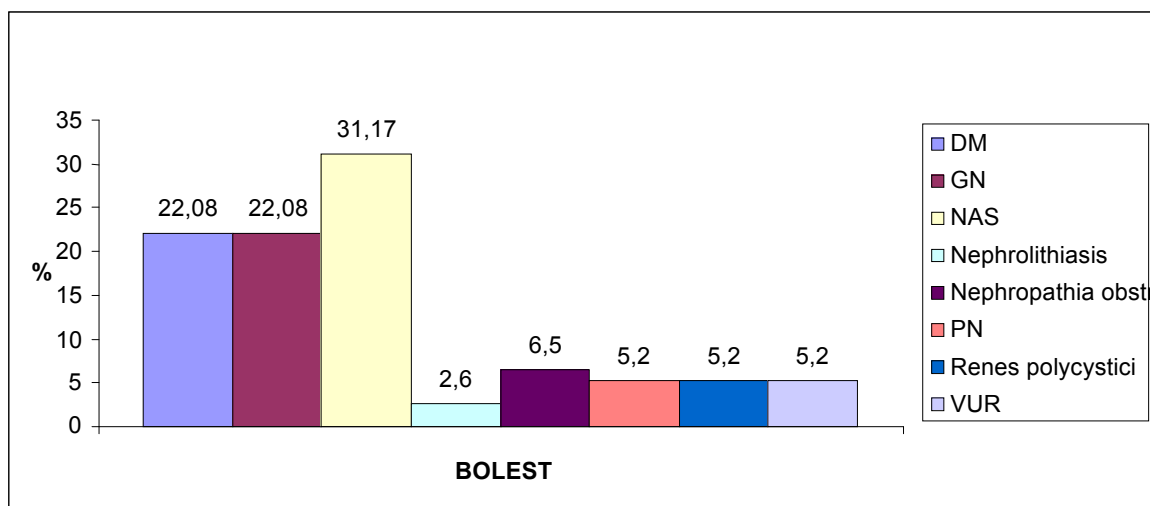
Bolesnici su bili stari između 28 i 77 godina, medijana 57 godina. Najveći broj ispitanika se nalazio u starosnoj grupi između 51 i 60 godina. Starosna struktura je prikazana na grafikonu 4.2 .



Grafikon 4.2 Distribucija bolesnika po starosti

4.3 OSNOVNA BOLEST

Najčešći uzroci HBB u ispitivanoj grupi su bili nefroangioskleroza (NS), šećerna bolest (DM) i različiti oblici glomerulonefritisa (GN). Kod četvrtine ispitanika, uzročnik HBB je neka od ređih bolesti: nefrolitijaza, opstruktivna nefropatija, hronični pijelonefritis, policistični bubrezi ili veziko-ureteralni refluks. Zastuplenost pojedinih uzroka HBB prikazana je na grafikonu 4.3

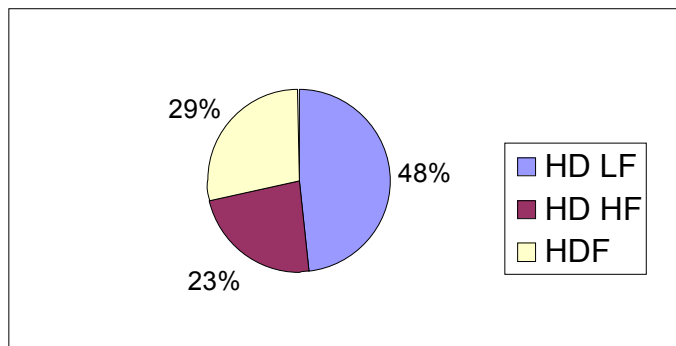


Grafikon br. 4. 3 Uzroci hronične bubrežne bolesti

4.4 PARAMETRI POVEZANI SA DIJALIZOM

Svi ispitanici su bili na hroničnom programu hemodijalize tokom najmanje tri meseca, prosečno 4,87 godina \pm 4,26, u intervalu od tri meseca do devetnaest godina. Osam bolesnika (10,4%) se dijaliziralo kraće od godinu dana. Svi su dijalizirani tri puta nedeljno, po četiri sata.

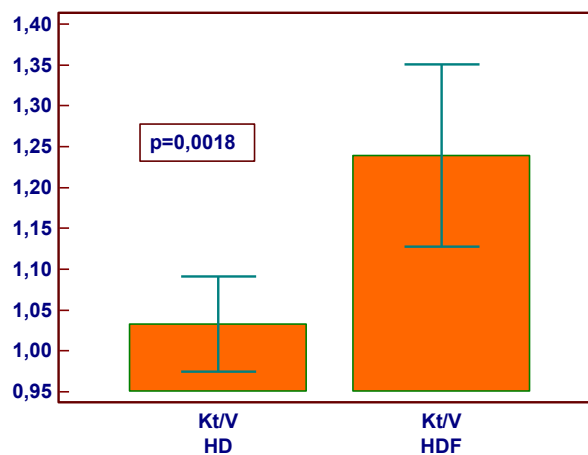
Većina ispitanika je lečena hemodijalizom, njih pedeset i pet (71%), dok je kod dvadeset i dva (29%) primenjivana hemodijafiltracija (Grafikon 4.4.1) U okviru hemodijalize, primenjivane su metode niskoprotočne (HD LF) i visokoprotočne (HD HF) hemodijalize. Kod svih ispitanika su korištene sintetičke polisulfonske membrane za dijalizatore i bikarbonatna tečnost za dijalizu. Brzina protoka krvi kretala se između 150 i 300 ml/min, a brzina protoka dijalizne tečnosti je bila 500 ml/min.



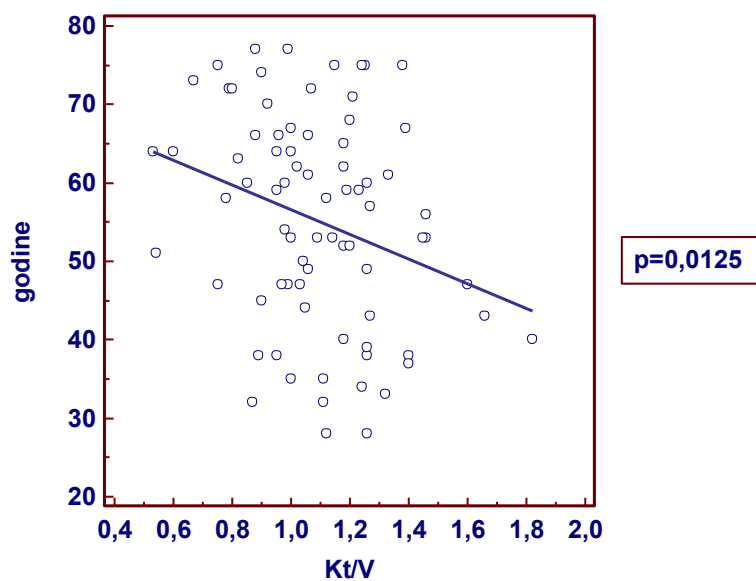
Grafikon 4.4.1 Vrsta dijalize

Srednja vrednost pokazatelja adekvatnosti dijalize, indeksa Kt/V , je bila 1,09 \pm 0,24. Kod bolesnika na HD Kt/V je bio 1,0327 \pm 0,2162, a kod onih na HDF Kt/V je bio 1,3291 \pm 0,2506, što je statistički značajna razlika ($p=0,0018$), prikazano na grafikonu 4.4.2.

Rezultati ispitivanja



Grafikon 4.4.2 Korelacija između vrednosti Kt/V i vrste dijalizne procedure

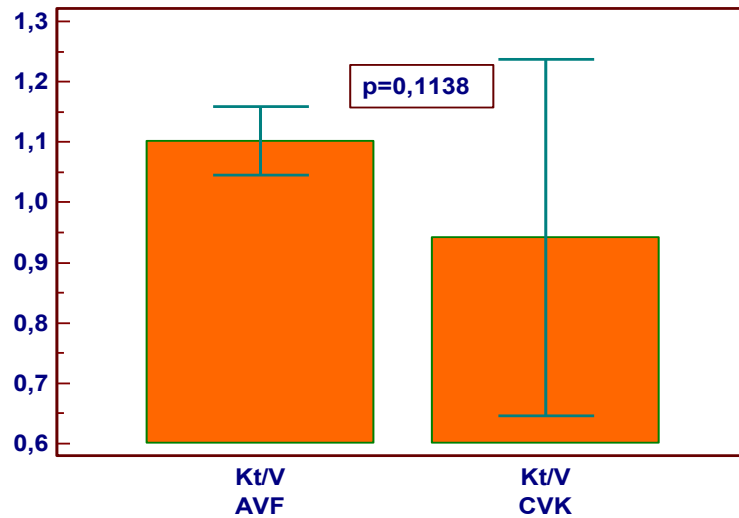


Grafikon 4.4.3 Korelacija između vrednosti Kt/V i starosti bolesnika u univarijantnoj analizi

Utvdili smo postojanje negativne korelacije između starosti bolenika i vrednosti koeficijenta Kt/V, što je prikazano na grafikonu 4.4.3.

U odnosu na vrstu vaskularnog pristupa, grupe se nisu razlikovale po vrednostima indeksa Kt/V, što se vidi na grafikonu 4.4.4.

Rezultati ispitivanja



Grafikon 4.4.4 Korelacija između vrste vaskularnog pristupa i indeksa Kt/V

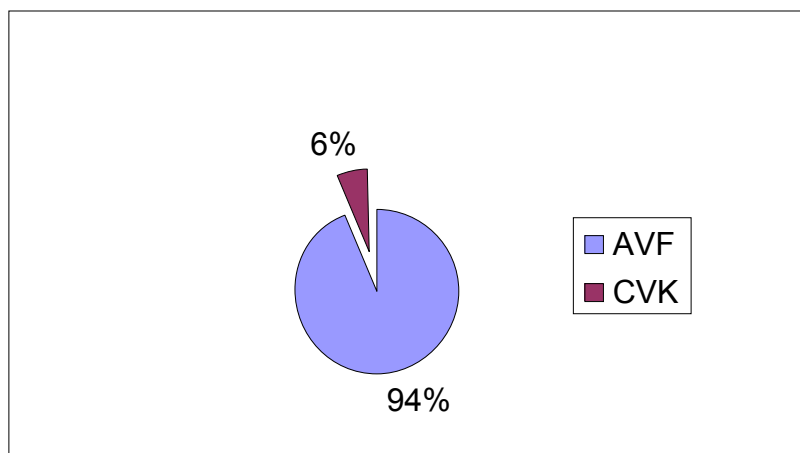
Multivarijantnom analizom faktora koji utiču na vrednosti Kt/V (tabela 4.4.1), utvrđeno je da je jedino vrsta dijalizne procedure nezavisan faktor koji utiče na Kt/V.

Tabela 4.4.1. Povezanost između Kt/V i značajnih faktora u multivarijantnoj analizi

parametar		korelacioni koeficijent	p
vrsta dijalize	(HDF %)	0,1560	0,0163
vrsta vaskularnog pristupa	(CVK %)	-0,1294	0,2306
starost	(godine)	-0,003221	0,1300
Konstanta: 1,2331			p=0,002

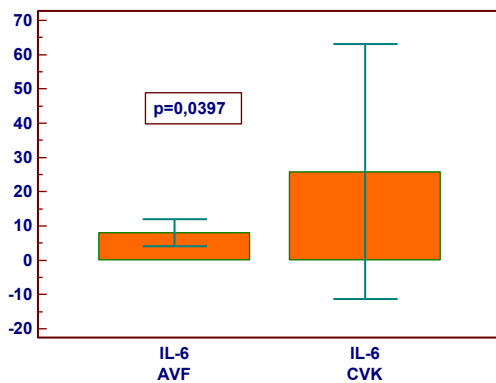
Kao vaskularni pristup za potrebe hemodijalize, kod sedamdeset i dva bolesnika je korišćena arterio-venska fistula (AVF), dok je dvolumenski centralni venski kateter za potrebe hemodijalize (CVK), bio plasiran kod 5 bolesnika. (Grafikon 4.4.5)

Rezultati ispitivanja

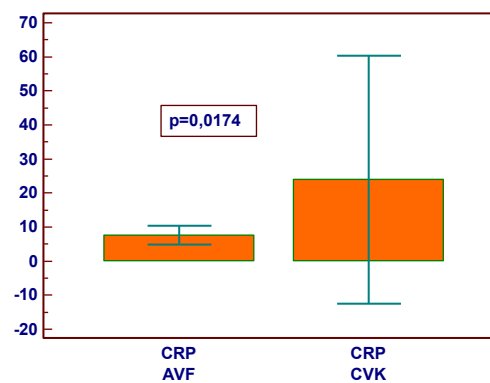


Grafikon 4.4.5 Vaskularni pristup za potrebe hemodijalize.

Kao što se vidi na grafikonima 4.4.6 i 4.4.7, u odnosu na vrstu vaskularnog pristupa, bolesnici su imali statistički značajno različite vrednosti parametara inflamacije CRP i IL-6.



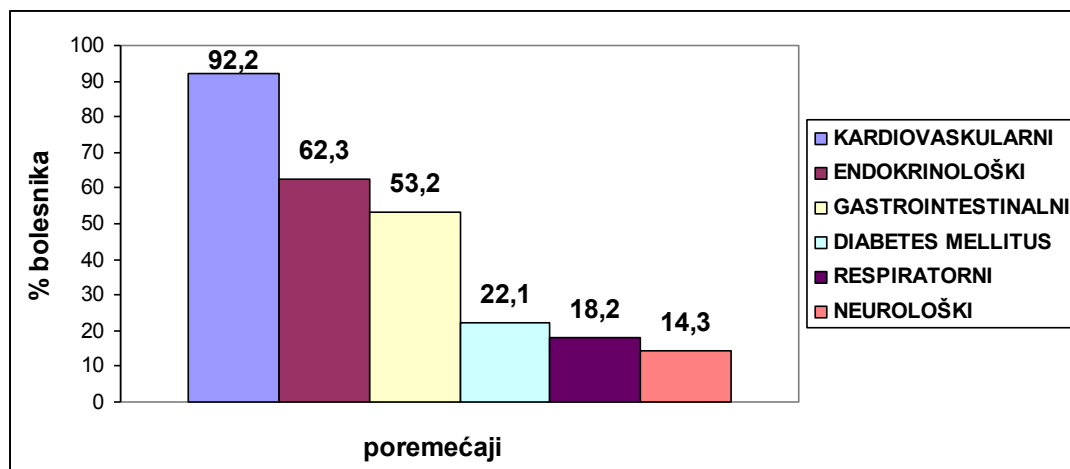
Grafikon 4.4.6 Korelacija između vaskularnog pristupa i IL-6



Grafikon 4.4.7 Korelacija između vaskularnog pristupa i CRP

4.5 KLINIČKA SLIKA

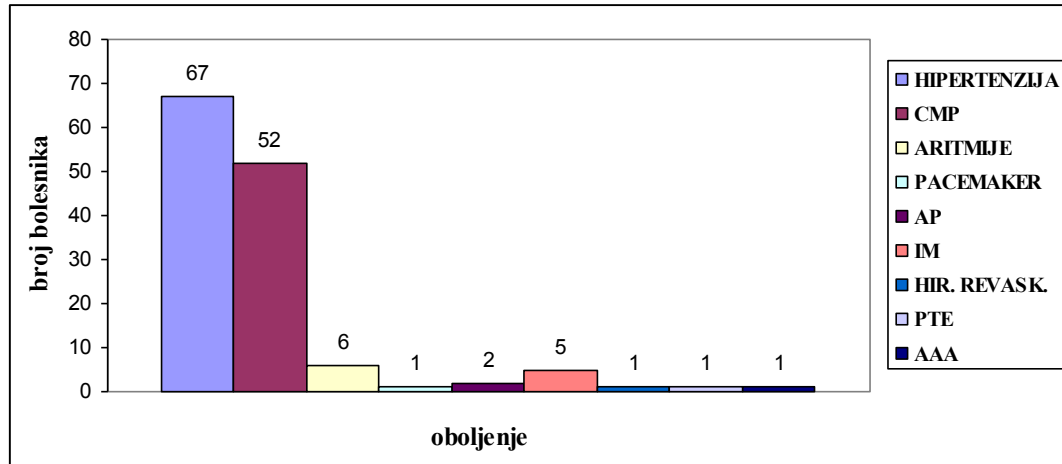
Osim oboljenja bubrega, u ispitivanoj populaciji bila su prisutna i oboljenja drugih organskih sistema. Najčešće su bila oboljenja kardiovaskularnog i gastrointestinalnog sistema, kao i oboljenja žlezda sa unutrašnjim lučenjem. Kao što se iz grafikona 4.5.1 vidi, poremećaji drugih organskih sistema bili su zastupljeni kod manjeg procenta obolelih.



Grafikon 4.5.1 Analiza prisutnih komobiditeta

Analizom oboljenja kardiovaskularnog sistema, utvrđeno je da su ona prisutna kod sedamdeset i jednog bolesnika (92,2%), a da je hipertenzija najčešće prisutna bolest u ispitivanoj populaciji (87%), dok su različiti oblici karidomiopatija bili prisutni kod 55,8% bolesnika. Osim ovih bolesti, kod manjeg procenta obolelih registrovane su valvularne mane, poremećaji srčanog ritma, sindrom angine pectoris i stanje nakon infarkta miokarda. Kao što se vidi na grafikonu 4.5.2 hirurška revaskularizacija miokarda rađena je kod jednog bolesnika, a zabeležen je i jedan slučaj plućne tromboembolije i aneurizme abdominalne aorte.

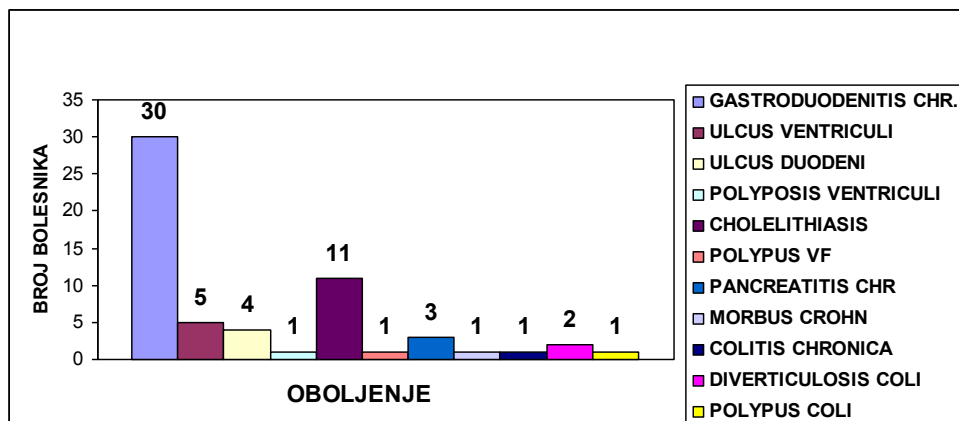
Rezultati ispitivanja



Grafikon 4.5.2 Kardiovaskularna oboljenja

Na početku dijalize, bez povišenog krvnog pritiska bilo je 22 bolesnika. Kod trideset devet (50,6%) bila je prisutna izolovana sistolna hipertenzija, dok je izolovana dijastolna hipertenzija bila prisutna kod tri bolesnika (3,9%). Povišene vrednosti i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska bile su izmerene kod trinaest bolesnika (16,9%).

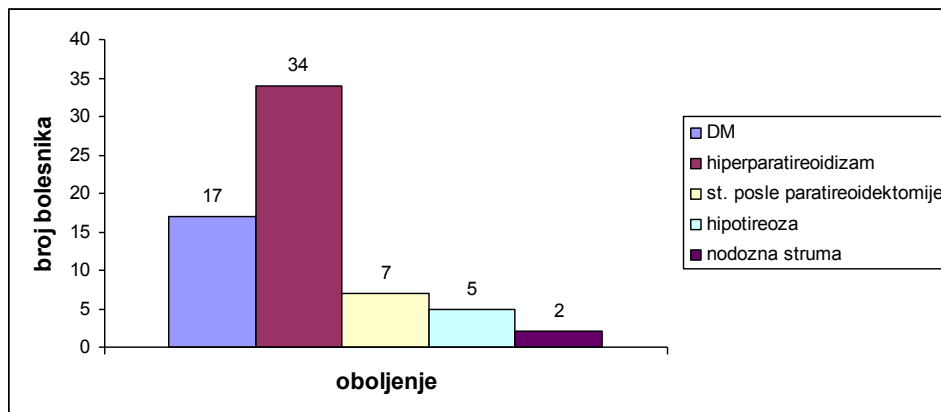
Gastrointestinalna oboljenja javila su se kod četrdeset i jednog bolesnika (53,2%), najčešće hronični gastroduodenitis i holecistijaza. Zastupljenost ostalih oboljenja prikazana je na grafikonu 4.5.3



Grafikon 4.5.3 Gastrointestinalna oboljenja

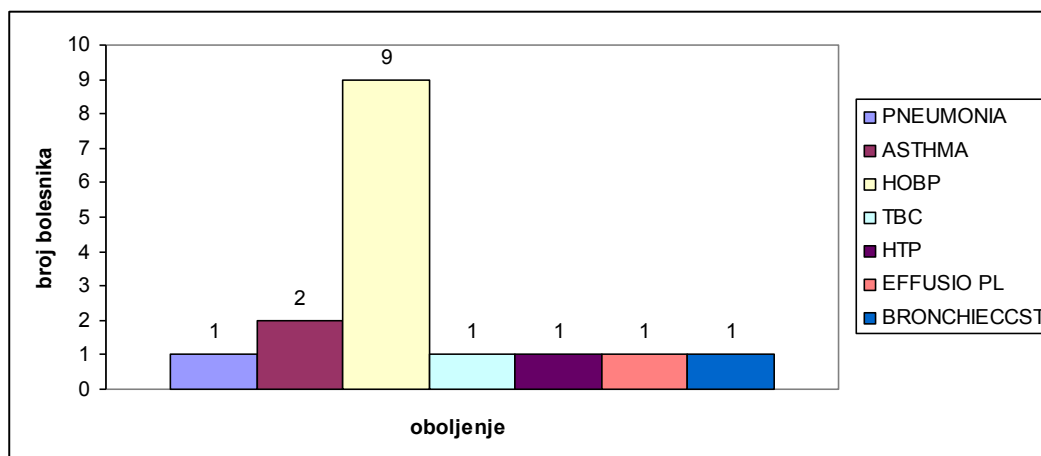
Rezultati ispitivanja

Šećerna bolest, sa svojim mikro- i makrovaskularnim komplikacijama bila je prisutna kod sedamnaest bolesnika (22,1%). Od ostalih oboljenja žlezda sa unutrašnjim lučenjem, bila su prisutna oboljenja štitaste i paraštitaste žlezde, što je prikazano na grafikonu 4.5.4.



Grafikon 4.5.4 Endokrinološki poremećaji

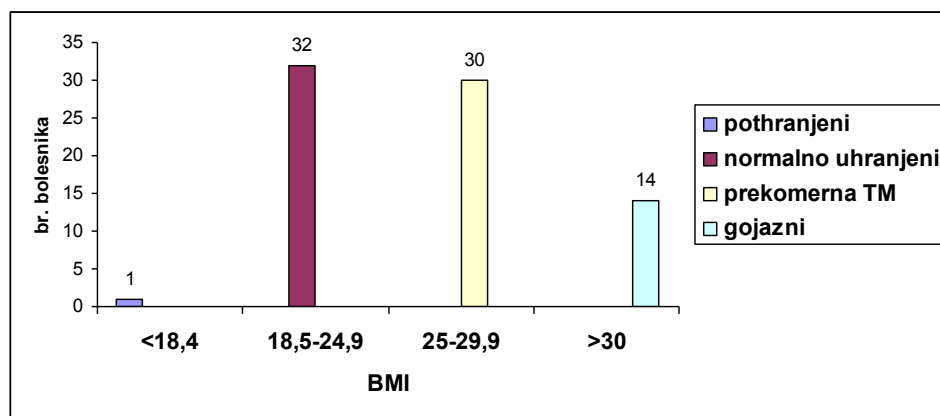
Bolesti sistema organa za disanje bile su prisutne kod četrnaest bolesnika (18,2%), najčešće hronična opstruktivna bolest pluća. Na grafikonu 4.5.5 prikazana je zastupljenost ostalih oboljenja.



Grafikon 4.5.5 Oboljenja sistema organa za disanje

Rezultati ispitivanja

Srednja vrednost BMI iznosila je $26,6494 \pm 4,6055$. Iz grafikona br se vidi da je gotovo jednak broj bolesnika koji su normalno uhranjeni i onih sa prekomernom telesnom masom.



Grafikon 4.5.6 Analiza uhranjenosti bolesnika

4.6 REZULTATI BIOHEMIJSKIH ANALIZA

Kod svih bolesnika analizirani parametri hematopoeze, pokazatelji funkcije bubrega i jetre, elektroforeza serumskih proteina, lipidski status, parametri metabolizma gvožđa, parametri inflamacije i hepcidin.

4.6.1 Parametri hematopoeze

Analizirani su standardni hematološki parametri. Sprovedenim ispitivanjem utvrđeno je da su fiziološke vrednosti eritrocita zabeležene kod četiri od sedamdeset i sedam bolesnika (5,2%), leukocita kod šezdeset i pet bolesnika (84,4%) i trombocita kod sedamdeset i dva bolesnika (93,5%). Četiri bolesnika imalo je vredosti leukocita iznad gornje granice, a osam ispod donje granice fizioloških vrednosti. Trombocitopenija je bila prisutna kod pet bolesnika. Anemija, prema definiciji Svetske Zdravstvene Organizacije, nije bila prisutna kod sedam bolesnika (9,1%). Analizom eritrocitnih indeksa (MCV, MCH i MCHC), utvrđeno je da je kod ispitivanih pacijenata bila prisutna normocitno- normohromna anemija. Sposobnost koštane srži za eritropoezu ispitivana je određivanjem broja retikulocita. Dobijeni rezultati su pokazali da su retikulociti bili u okviru fizioloških vrednosti kod sedamdeset bolesnika (90,9%). Kod sedam bolesnika (9,1%) vrednosti retikulocita bile su niže od fizioloških, dok povišenih vrednosti nije bilo. Srednje vrednosti svih ispitivanih hematoloških parametara dati su u tabeli 4.6.1.1

Tabela 4.6.1.1 Rezultati analize hematoloških parametara

Parametar	Srednja vrednost +/- SD
Eritrociti (x10 ¹² /l)	3,30 +/-0,46
Hemoglobin (g/l)	104,11 +/- 14,82
Hematokrit (l)	0,310 +/- 0,051
MCV (10 ⁻¹⁵ l)	93,12 +/- 4,63
MCH (10 ⁻¹² l)	31,53 +/- 1,77
MCHC (g/l)	339,09 +/- 11,97
Retikulociti (x10 ⁹ /l)	44,96 +/- 24,01
Leukociti (x10 ⁹ /l)	6,96 +/- 1,95
Trombociti (x10 ⁹ /l)	210,51 +/- 63,78

4.6.2 Pokazatelji funkcije bubrega

Svi ispitanici su bili u V stadijumu HBB, pa su i laboratorijski pokazatelji funkcije bubrega, urea i kreatinin, bili povišeni u odnosu na fiziološke vrednosti. Mokraćna kiselina je bila povišena kod dvadeset i šest bolesnika (33,8%). Srednje vrednosti ispitivanih parametara prikazane su u tabeli broj 4.6.2.1.

Tabela 4.6.2.1 Parametri bubrežne funkcije

Parametar		Srednja vrednost +/- SD
Urea	(mmol/l)	25,16 +/- 6,62
Kreatinin	(μ mol/l)	881,52 +/- 231,90
Mokraćna kiselina	(μ mol/l)	372,69 +/- 78,23
Rezidualna diureza	(l/24h)	0,47 +/-0,5

Dvadeset i četiri bolesnika su potpuno anurični (31,2 %).

4.6.3 Pokazatelji funkcije jetre

Jedan od kriterijuma za uključivanje u ispitivanja je bilo odsustvo teškog, hroničnog oštećenja jetre, jer je jetra glavno mesto sinteze hepcidina. Ispitivanjem parametara funkcije jetre je provereno da li su svi ispitanici ispunili ovaj kriterijum. Ukupni bilirubin bio je povišen kod 3,9% bolesnika. Vrednosti alkalne fosfataze (AP) bile su povišene kod 11,7%, a gama-GT kod 18,2% bolesnika. Vrednosti AST bile su u okviru fizioloških kod svih bolesnika, a ALT kod 94,8 % bolesnika. Srednje vrednosti ispitivanih parametara date su u tabeli 4.6.3.1.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.6.3.1 Parametri funkcije jetre.

Parametar	Srednja vrednost +/- SD
Bilirubin ukupni ($\mu\text{mol/l}$)	9,36 +/- 5,21
Bilirubin direktni ($\mu\text{mol/l}$)	3,14 +/- 1,54
Alkalna fosfataza (U/l)	76,10 +/- 37,61
ALT (U/l)	18,78 +/- 9,07
AST (U/l)	15,6753 +/- 5,2376
Gama-GT (U/l)	27,7182 +/- 26,6911

4.6.4 Elektroforeza serumskih proteina

Elektroforeza serumskih proteina je analizirana radi procene nutritivog statusa bolesnika, sekretorne sposobnosti jetre i analize reaktanata akutne faze zapaljenja.

Snižene vrednosti ukupnih proteina u serumu zabeležene su kod 6,5% bolesnika, a albumina u serumu kod 5,2% bolesnika. Alfa globulini bili su povišeni kod dva bolesnika, i to po jedan bolesnik i za α_1 i za α_2 frakciju proteina. β_1 globulini bili su sniženi kod 40,3% bolesnika, a β_2 globulini povišeni kod 2,6% bolesnika. γ globulini bili su povišeni kod jednog bolesnika (1,3%), a povišen odnos albumina i globulina (A/G indeks) je registrovan kod 27,3% bolesnika. Srednje vrednosti frakcija dobijenih elektroforezom serumskih proteina prikazane su u tabeli 4.6.4.1.

Tabela 4.6.4.1 Elektroforeza serumskih proteina

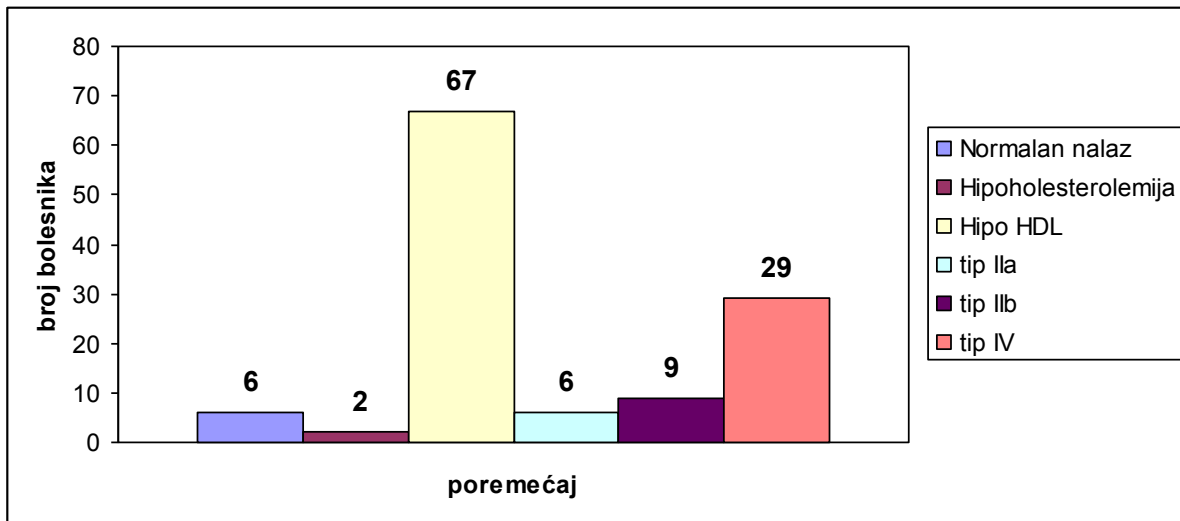
Parametar	Srednja vrednost +/- SD
Ukupni proteini (g/l)	66,57 +/- 5,08
Albumini (g/l)	42,25 +/- 3,78
Alfa -1 globulini (g/l)	1,68 +/- 0,29
Alfa -2 globulini (g/l)	6,60 +/- 1,06
Beta -1 globulini (g/l)	4,00 +/- 0,53
Beta -2 globulini (g/l)	2,97 +/- 1,36
Gama globulini (g/l)	9,08 +/- 2,45
A/G indeks	1,79 +/- 0,35

4.6.5 Lipidski status

Kod šest od sedamdeset i sedam bolesnika nije bilo poremećaja lipidskog statusa. Od poremećaja lipidskog statusa najzastupljenija je bila hipoHDLholesterolemija, zatim hipertrigliceridemija, izolovana ili udružena sa hipoHDLholesterole mijom. Srednje vrednosti parametara lipidskog statusa date su u tabeli 4.6.5.1, a zastupljenost poremećaja lipidskog statusa prikazana je na grafikonu 4.6.5.1.

Tabela 4.6.5.1 Rezultati analize parametara lipidskog statusa

Parametar	Srednja vrednost +/- SD
Ukupni holesterol (mmol/l)	4,64 +/- 1,08
Ukupni trigliceridi (mmol/l)	1,95 +/- 1,36
HDL holesterol (mmol/l)	1,07 +/- 0,40
LDL holesterol (mmol/l)	2,73 +/- 0,88
Indeks ateroskleroze	2,87 +/- 1,19



Grafikon 4.6.5.1 Poremećaji lipidskog statusa

4.6.6 Pokazatelji metabolizma gvožđa

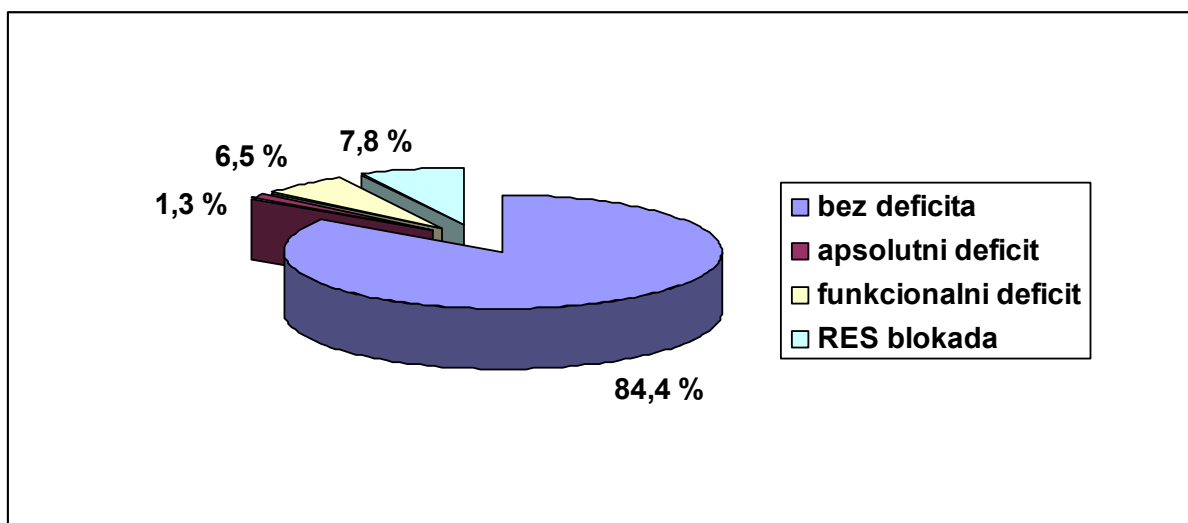
Od parametara značajnih za metabolizam gvožđa, ispitivani su serumsko gvožđe, feritin (pokazatelj telesnih rezervi gvožđa), transferin (transportni molekul za prenos gvožđa kroz krvotok), iz njega izvedeni ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa (TIBC) i saturacija transferina (TSAT) (pokazatelj dostupnosti gvožđa za eritropoezu), a dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 4.6.6.1.

Tabela 4.6.6.1 Parametri metabolizma gvožđa

Parametar	Srednja vrednost +/- SD
Serumsko gvožđe (μmol/l)	11,96 +/- 5,51
Feritin (μg/l)	672,24 +/- 454,36
Transferin (g/l)	1,51 +/- 0,23
TIBC (μmol/l)	37,75 +/- 5,66
TSAT (%)	32,63 +/- 17,26

Vrednosti gvožđa u serumu bile su u okviru fizioloških kod trideset i jednog bolesnika (40,3%), dok su kod preostalih četrdeset i šest bolesnika (59,7%) bile snižene. Povišene vrednosti feritina utvrđene su kod šezdeset i tri bolesnika (81,8%). Transferin je bio snižen kod sedamdeset i šest bolesnika (98,7%), a samo kod jednog je bio u okviru referentnih vrednosti. Ukupan kapacitet za vezivanje gvožđa bio je snižen kod sedamdeset bolesnika (90,9%), a kod ostalih sedam je bio u okviru normalnih vrednosti. Procenat saturacije transferina bio je u okviru referentnih vrednosti kod šezdeset i tri bolesnika (81,8%), kod pet bolesnika (6,5%) bio je povišen, a kod devet (11,7%) snižen.

Apsolutni deficit gvožđa, definisan kao vrednosti feritina <100 μg/l i TSAT <20%, imao je jedan bolesnik. Funkcionalni deficit gvožđa, definisan kao vrednosti feritina >100 μg/l, a TSAT <20%, bio je prisutan kod pet bolesnik. Retikuloendotelnu blokadu gvožđa, definisanu kao vrednosti feritina >100 μg/l, a TSAT <20% uz CRP >5 mg/l, imalo je šest bolesnika. Iz grafikona 4.6.6.1 se vidi da je bez deficita gvožđa bilo šezdeset i pet bolesnika.



Grafikon 4.6.6.1 Analiza prisutnosti deficita gvožđa

4.6.7 Pokazatelji inflamacije

Ispitivanje je obuhvatilo samo one bolesnike koji nisu imali kliničke znake akutne inflamacije. Kao laboratorijski pokazatelji inflamacije ispitivani su sedimentacija eritrocita (SE), fibrinogen, C-reaktivni protein (CRP) i Interleukin 6 (IL-6), a dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 4.6.7.1

Tabela 4.6.7.1 Parametri inflamacije

Parametar	Srednja vrednost +/- SD
SE (mmHg/h)	43,05 +/- 28,93
Fibrinogen (g/l)	3,57 +/- 0,69
CRP (mg/l)	8,71 +/- 13,71
IL-6 (pg/ml)	9,19 +/- 18,37

Ubrzana sedimentacija eritrocita bila je prisutna kod sedamdeset i jednog bolesnika (92,2 %).

Povišene vrednosti fibrinogena utvrđene su kod tri bolesnika (3,9%).

Povišene vrednosti CRP su registrovane kod trideset i četiri bolesnika (44.2%).

Povišene vrednosti IL-6 utvrđene su kod četrnaest bolesnika (18,2%).

4.7 MEDIKAMENTOZNA STIMULACIJA ERITROPOEZE

Od sedamdeset i sedam bolesnika koji su analizirani u ovom ispitivanju, agens za stimulaciju eritropoeze (ESA) je bio neophodan kod šezdeset i osam (88,3%). Kod preostalih devet (11,7%), na osnovu vrednosti hemoglobina, nije bilo potrebno davati ESA u toku najmanje šest meseci do uključanja u ispitivanje. Prosečna dužina lečenja ESA je bila 3,7 godina, a kretala se u intervalu od šest meseci do jedanaest godina. Nedeljne doze ESA određivane su prema vrednostima hemoglobina i trenutnim mogućnostima Odeljenja za hemodijalizu. Prosečne nedeljne doze izračunate su na osnovu doza datih tokom tri meseca pre uključanja u ispitivanje. Indeks rezistencije na ESA izračunavan je prema formuli: prosečna nedeljna doza (IU)/TM (kg)/hemoglobin (g/dl). Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 4.7.1.

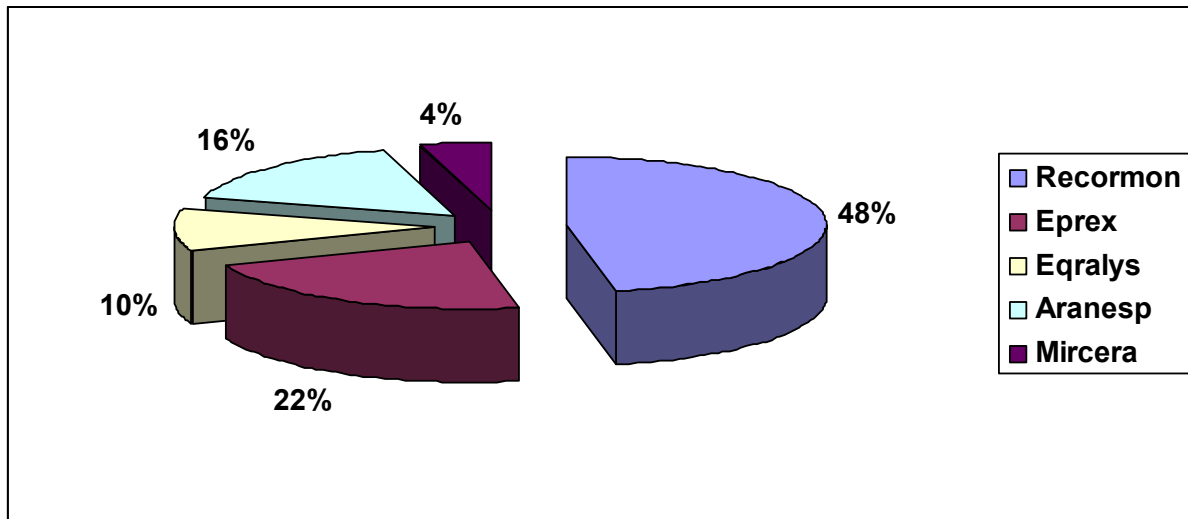
Tabela 4.7.1 Parametri povezani sa agensom za stimulaciju eritropoeze

Parametar	Srednja vrednost +/- SD
Dužina lečenja ESA (godine)	3,7 +/- 3,1
Nedeljna doza ESA (IU)	4295,59 +/- 2052,84
Indeks rezistencije na ESA	5,88 +/- 3,39

Kod pedeset i četiri bolesnika (79,4%) korišćen je kratkododelujući agens za stimulaciju eritropoeze, dok je neki od dugododeljućih agenasa primenjivan kod četrnaest bolesnika (20,65%). Kratkododelujući ESA koji su korišćeni bili su epoetin α (Eprex) i epoetin β (Recormon), bilosimilar epoetina α (Eqrals), a od dugododeljućih ESA korišćeni su darbepoetin α (Aranesp) i

Rezultati ispitivanja

dugodelujući aktivator eritropoetinskog receptora methoxy polyethylene glycol-epoetin beta (Mircera). Svi bolesnici dobijali su ESA intravenskim putem. Zastupljenost pojedinih vrsta ESA prikazana je na grafikonu 4.7.1.



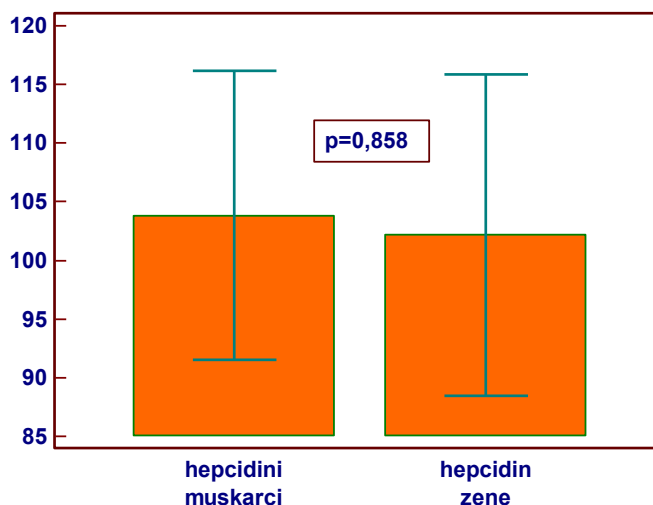
Grafikon 4.7.1 Zastupljenost pojedinih agenasa za stimulaciju eritropoeze

4.8 HEPCIDIN

4.8.1 Određivanje nivoa hepcidina kod bolesnika lečenih hroničnim programom hemodijalize

Nivo hepcidina u serumu je analiziran kod sedamdeset i šest bolesnika. Srednja vrednost hepcidina u ispitivanoj populaciji je bila 103,12 +/- 39,18 ng/ml, a kretala se u intervalu od 27 do 210 ng/ml. Vrednosti serumskog nivoa hepcidina u okviru referentnih granica zabeležene su kod dva bolesnika (2,6%)

U ispitivanoj grupi, pol bolesnika nije uticao na vrednosti hepcidina, što se vidi iz grafikona 4.8.1.1.



Grafikon 4.8.1.1 Korelacija između pola i serumskog nivoa hepcidina.

4.8.2 Hepcidin i uzrok hronične bubrežne bolesti

U odnosu na osnovnu bolest koja je dovela do hronične bubrežne insuficijencije bolesnici su podeljeni u četiri grupe. Za svaku od nastalih grupa izračunate su srednje vrednosti +/- SD za hepcidin, hemoglobin i ERI (tabela 4.8.2.1), nakon čega su grupe međusobno upoređene (tabela 4.8.2.2 i tabela 4.8.2.3). Iz prikazanih rezultata se vidi da ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima serumskog nivoa hepcidina, hemoglobina, ERI i nedeljnoj dozi ESA između grupa sa različitim uzrokom HBB.

Rezultati ispitivanja

Tabela br. 4.8.2.1 Srednje vrednosti hepcidina, hemoglobina i ERI kod bolesnika sa različitim uzrokom HBB

UZROK	HEPCIDIN		HEMOGLOBIN		ERI	
	n	Sr vrednost +/- SD	n	Sr vrednost +/- SD	n	Sr vrednost +/- SD
DM	17	102.91 +/-31.18	17	105.89+/-18.19	15	5.00+/-2.23
GN	17	108.32+/-40.77	17	100.59+/-11.99	16	6.58+/-3.12
NAS	24	91.48+/-33.92	24	106.08+/-16.55	20	6.42+/-4.41
OSTALO	19	113.37+/-48.19	19	103.17+/-11.61	17	5.73+/-2.9

Tabela 4.8.2.2 Nivo statističke razlike vrednosti hepcidina i hemoglobina u odnosu na uzrok HBB

HEPCIDIN				
	p			
	DM	GN	NAS	OSTALO
DM		0,6668	0,2787	0,4508
GN	0,3234		0,1578	0,7380
NAS	0,9724	0,2506		0,0881
OSTALO	0,5923	0,5166	0,5196	
p				

HEMOGLOBIN

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.8.2.3 Nivo statističke razlike vrednosti ERI i nedeljen doze ESA
u odnosu na uzrok HBB

		p			
	DM	GN	NAS	OSTALO	
DM		0,1177	0,2626	0,4358	
GN	0,3556		0,9032	0,4235	
NAS	0,6396	0,6451		0,5850	
OSTALO	0,4101	0,8983	0,6111		
		p			

NEDELJNO ESA

4.8.3 Korelacija između hepcidina i parametara metabolizma gvožđa

Korelacionom analizom smo pokušali da utvrdimo stepen zavisnosti nivoa hepcidina i parametara metabolizma gvožđa, parametara inflamacije i pokazatelja efikasnosti terapije agensom za stimulaciju eritropoeze. Osim toga, analizirali smo i stepen zavisnosti nivoa hepcidina i parametara funkcije bubrega i jetre, parametara povezanih sa dijalizom, parametara lipidskog statusa i elektroforezom serumskih proteina.

Telesne rezerve gvožđa su jedan od faktora koji utiče na nivo hepcidina u serumu. Univarijantnom analizom ispitana je povezanost između serumskog nivoa hepcidina i različitih parametara koji utiču na metabolizam gvožđa. Kao što je prikazano u tabeli 4.8.3.1 postoji pozitivna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i vrednosti gvožđa u serumu, feritina i saturacije transferina, i negativna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i vrednosti transferina i ukupnog kapaciteta za vezivanje gvožđa. Najviši stepen korelacije postoji između hepcidina i feritina.

Tabela br. 4.8.3.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i različitih pokazatelja metabolizma gvožđa

parametar	r	p
seFe (μmol/l)	0,3231	0,0044
FERITIN (μg/l)	0,6173	<0,0001
TRANSFERIN (μg/l)	-0,2645	0,0209
TIBC (μmol/l)	-0,2637	0,0214
TSAT (%)	0,3869	0,0006

4.8.4 Korelacija između hepcidina i parametara inflamacije

Hepcidin je reaktant aktune faze zapaljenja, te se porast njegovog nivoa u serumu očekuje u stanjima inflamacije. Zbog toga smo ispitali korelaciju između serumskog nivoa hepcidina i različitih parametara inflamacije. U univarijantnoj analizi, hepcidin korelira samo sa svojim direktnim regulatorom interleukinom 6 (tabela 4.8.4.1)

Tabela 4.8.4.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i različitih pokazatelja inflamacije

parametar	r	p
SE (mmHg/h)	0,06306	0,5884
FIBRINOGEN (g/l)	0,03263	0,7796
CRP (mg/l)	0,1098	0,3454
IL-6 (pg/ml)	0,2893	0,0113

4.8.5 Korelacija između hepcidina i pokazatelja hematopoeze

U stanjima hipoksije i pojačane eritropoeze očekuje se porast nivoa hepcidina u serumu. Univarijantnom analizom uvrđeno je postojanje pozitivne korelacije između hepcidina i nedeljne doze ESA. Negativna korelacija između hepcidina i hemoglobina je bila granično statistički značajna. Korelacija sa ostalim parametrima hematopoeze prikazana je na tabeli 4.8.5.1

Tabela 4.8.5.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i parametara povezanih sa hematopoezom

parametar	r/rho	p
NEDELJNA DOZA ESA (IU)	0,2593	0,0341
ERI	0,1123	0,3619
DUŽINA LEČENJA (god)	0,1438	0,2457
VRSTA ESA (%)	-0,2026	0,1002
HEMOGLOBIN (g/l)	-0,2169	0,0598
RTCI (x10 ⁹ /l)	-0,01136	0,9224
LKCI (x10 ⁹ /l)	0,1036	0,373
TRCI (x10 ⁹ /l)	0,1057	0,3636

4.8.6 Korelacija između hepcidina i parametara bubrežne funkcije

Zbog svoje uloge u izlučivanju hepcidina, bubrezi ima uticaj na serumski nivo hepcidina. U ispitivanoj grupi bolesnika u V stadijumu HBB, kao što se vidi u tabeli 4.8.6.1, ni jedan od ispitivnih parametara bubrežne funkcije nije korelirao sa nivoom hepcidina.

Tabela 4.8.6.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i pokazatelja funkcije bubrega.

parametar	r/rho	p
UREA (mmol/l)	0,1167	0,3156
KREATININ (μmol/l)	-0,04325	0,7107
AC. URICUM (μmol/l)	-0,02327	0,8419
dU (l/24h)	-0,1577	0,1737

4.8.7 Korelacija između hepcidina i parametara povezanih sa dijalizom

Hepcidin je mali molekul koji difunduje kroz dijaliznu membranu. U tabeli broj 4.8.7.1 je prikazano da serumski nivo hepcidina u našem ispitivanju nije korelirao sa vrstom dijalizne procedure, dužinom lečenja hemodijalizom, vaskularnim pristupom, kao ni sa indeksom adekvatnosti dijalize Kt/V.

Tabela 4.8.7.1 Korelacija serumskog nivoa hepcidina i parametara povezanih sa dijaliznom procedurom

parametar	r/rho	p
VRSTA DIJALIZE (HDF %)	0,159	0,1703
Kt/V	0,09118	0,4334
DUŽINA DIJALIZE (god)	0,1198	0,3028
VASKULARNI PRISTUP (CVK %)	0,114	0,3278

4.8.8 Korelacija između hepcidina i parametara funkcije jetre

Očuvana sintetska sposobnost jetre je neophodna za sintezu hepcidina. U tabeli 4.8.8.1 je pokazana povezanost između serumskog nivoa hepcidina i različitih parametara funkcije jetre.

Rezultati ispitivanja

Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i vrednosti ALT i gama-GT.

Tabela 4.8.8.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i parametara funkcije jetre

parametar		r	p
BILIRUBIN uk	($\mu\text{mol/l}$)	0,1853	0,1091
BILIRUBIN dir	($\mu\text{mol/l}$)	0,2129	0,0648
AP	(U/l)	-0,04735	0,6846
AST	(U/l)	0,05384	0,6441
ALT	(U/l)	0,2754	0,0161
gama-GT	(U/l)	0,1341	0,2483

4.8.9 Korelacija između hepcidina i lipidskog statusa

Srednja vrednost indeksa telesne mase (BMI) je 26,6494 +/- 4,6055. Nije utvrđena statistički značajna korelacija između BMI i serumskog nivoa hepcidina ($r=0,1759$, $p=0,1285$).

Ni jedan od parametara lipidskog statusa nije statistički značajno korelirao sa serumskim nivoom hepcidina, prikazano u tabeli 4.8.9.1.

Tabela 4.8.9.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i lipidskog statusa

parametar		r	p
uk. Holesterol	(mmol/l)	0,1457	0,2092
uk. Trigliceridi	(mmol/l)	0,1977	0,0869
HDL-holesterol	(mmol/l)	-0,1443	0,2135
LDL-holesterol	(mmol/l)	0,04934	0,6721
INDEX ATEROSKLEROZE		0,1828	0,1139

Nije utvrđeno postojanje korelacije između BMI i hepcidina ($r=0,1759$, $p=0,1285$)

4.8.10 Korelacija između hepcidina i serumskih proteina

Hepcidin cirkuliše plazmom delom slobodan, a delom vezan za α_2 makroglobulin. Sprovedenim ispitivanjem nije utvrđeno postojanje statistički značajne korelacije između nivoa različitih frakcija serumskih proteina i nivoa hepcidina u serumu, što je prikazano u tabeli 4.8.10.1.

Tabela 4.8.10.1. Korelacije između serumskog nivoa hepcidina i nivoa serumskih proteina

parametar		r/rho	p
Uk. PROTEINI	(g/l)	-0,1193	0,3046
ALBUMINI	(g/l)	-0,05142	0,6591
ALFA 1	(g/l)	0,01851	0,8739
ALFA 2	(g/l)	0,01851	0,8739
BETA 1	(g/l)	-0,1295	0,265
BETA 2	(g/l)	0,0137	0,9065
GAMA gl	(g/l)	-0,1578	0,1734
A/G		0,07867	0,4994

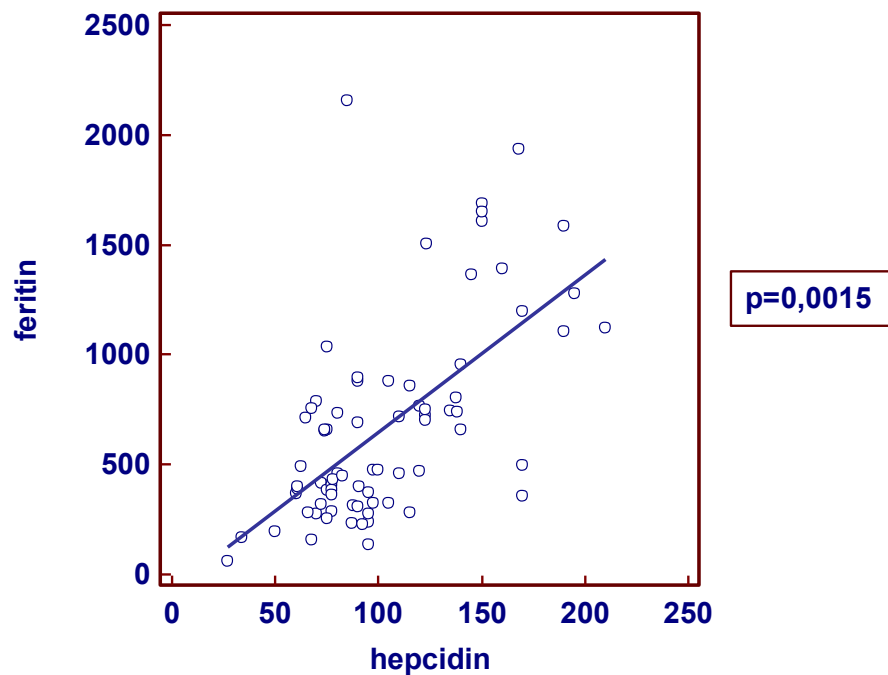
4.8.11 Korelacija između hepcidina i ispitivanih faktora u multivarijantnoj analizi

Od svih ispitivanih parametara koji su značajno korelirali sa nivoom hepcidina u serumu, multivarijantna analiza je izdvojila samo nivo feritina kao signifikantan i nezavisan činilac, što se vidi iz tabele 4.8.11.1. i grafikona 4.8.11.1.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.8.11.1 Povezanost značajnih parametara i hepcidina u multivarijantnoj analizi

parametar		koeficijent regresije	p
seFe	($\mu\text{mol/l}$)	-6,0679	0,2595
feritin	($\mu\text{g/l}$)	0,04221	0,0015
tansferin	(g/l)	20,0173	0,5488
TSAT	(%)	2,1603	0,2408
IL-6	(pg/ml)	0,1745	0,4474
nedeljno ESA	(IU)	0,003144	0,1496
ALT	(IU)	0,4861	0,2846
Konstanta = 11,855			p<0,001



Grafikon 4.8.11.1 Korelacija između serumskog nivoa hepcidina i feritina

4. 9 HEMOGLOBIN

Anemija u HBB ima veliki klinički značaj. Zbog toga je analiziran uticaj različitih faktora na nivo hemoglobina (Hb) u ispitivanoj grupi. Pozitivna korelacija postoji između Hb i leukocita,

Rezultati ispitivanja

ukupnih proteina i albumina, a negativna korelacija između hemoglobina i feritina, indeksa rezistencije na eritropoetin i nedeljne doze ESA. Blizu statistički značajne povezanosti su i transferin, TIBC i hepcidin. Korelacija sa ostalim ispitivanim parametrima data je u tabeli 4.9.1.

Tabela 4.9.1 Povezanost nivoa hemoglobina sa različitim ispitivanim faktorima

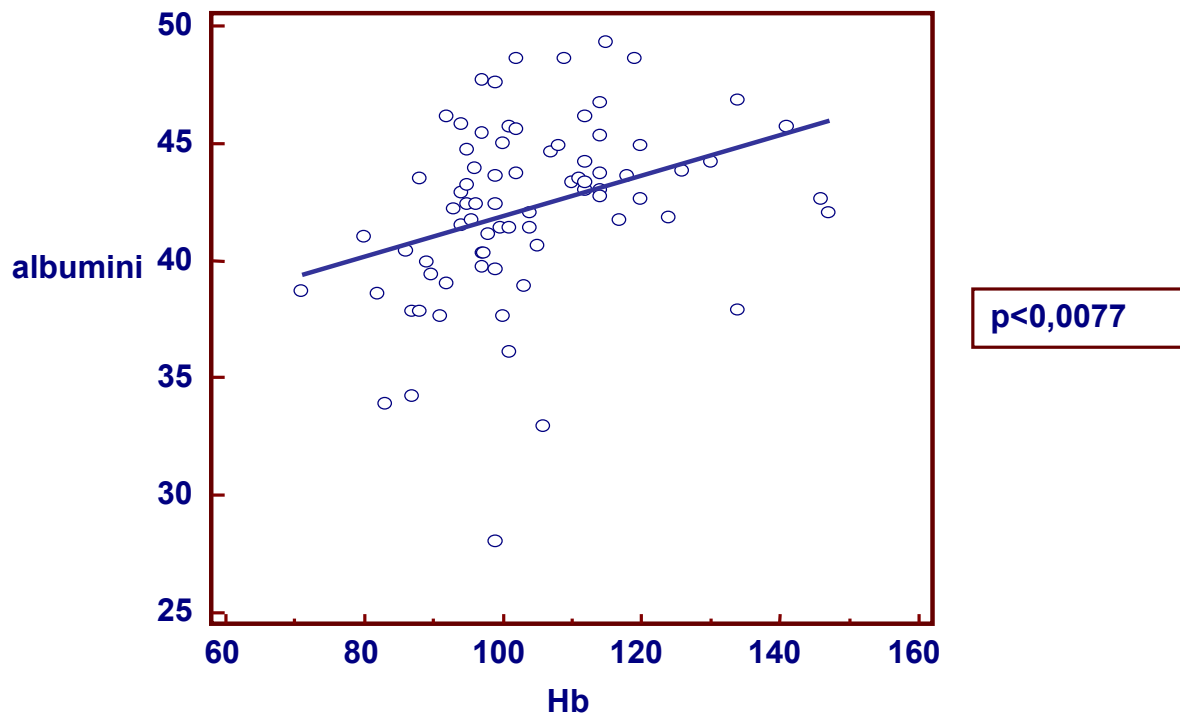
PARAMETAR	r/rho/τ (n=77)	p
Starost (godine)	-0.07927	0.4932
Pol (M %)	0.0793	0.3105
Dužina HD (godine)	0.1640	0.1541
Vask. pristup (CVK %)	-0.0157	0.8297
Kt/V	0.05052	0.6626
Rest dU (l/24h)	-0.04881	0.6734
BMI (kg/m ²)	-0.03529	0.7686
Rtci (x10 ⁹ /l)	0.06887	0.5517
Lkci (x10 ⁹ /l)	0.2234	0.0508
Trci (x10 ⁹ /l)	-0.03291	0.7763
Urea (mmol/l)	-0.0448	0.688
Kratinin (μmol/l)	0.1754	0.1271
Ac. uricum (μmol/l)	0.1221	0.2903
Proteini ukupni (g/l)	0.2548	0.0253
Albumini (g/l)	0.3403	0.0025
LDL (mmol/l)	0.1673	0.1458
Indeks ateroskleroze	0.04946	0.9659
seFe (μmol/l)	-0.04227	0.7151
Feritin (μg/l)	-0.2315	0.0427
Transferin (g/l)	0.2178	0.0570
TIBC (μmol/l)	0.2185	0.0563
TSAT (%)	-0.09757	0.3986
PTH (pg/ml)	-0.0652	0.5758
SE (mmHg/h)	-0.2481	0.0296
Fibrinogen (g/l)	0.02557	0.8253
CRP (mg/l)	-0.1500	0.1929
IL-6 (pg/ml)	-0.1039	0.3684
ERI	-0.3947	0.0009
Nedeljno ESA (IU)	-0.2485	0.0041
Vrsta ESA (dugodel. %)	0,00771	0,9334
Dužina ESA (godine)	-0.02456	0.8424
Hepcidin (n=76) (ng/ml)	-0.2169	0.0598

Rezultati ispitivanja

Od ispitivanih parametara koji su u univarijantnoj analizi značajno korelirali sa nivoom Hb, multivarijantna analiza je potvrdila pozitivnu povezanost leukocita i albumina sa Hb. ERI nije analiziran u multivarijantnoj analizi jer je direktno matematički izveden iz vrednosti Hb. Najznačajniji činiac koji utiče na nivo Hb u ispitivanoj populaciji su albumini, što se vidi iz tabele 4.9.2 i grafikona 4.9.1

Tabela 4.9.2 Povezanost značajnih parametara i hemoglobina u multivarijantnoj analizi

PARAMETAR		koeficijent regresije	p
Lkci	($\times 10^9/l$)	2,0167	0,0106
albumini	(g/l)	1,2851	0,0077
feritin	($\mu g/l$)	-0,006455	0,0592
SE	(mmHg/h)	-0,08135	0,1671
Konstanta =47,0542			p<0,001



Grafikon 4.9.1. Korelacija između nivoa hemoglobina i albumina u serumu

4.10 HEMOGLOBIN VEĆI ILI MANJI OD 110

Vrednost Hb kojoj težimo u lečenju anemije u HBB je 110 g/l. Kod pedeset i dva bolesnika (67,5%) taj cilj nije postignut, dok je dvadeset i pet bolesnika (32,5%) imalo vrednosti Hb veće od 110 g/l

Komparirani su različiti parametri između dve grupe bolesnika da bismo utvrdili po čemu su se razlikovale i šta je uticalo na nivo Hb. Analizom je utvrđeno da se ove dve grupe, osim po ukupnom broju eritrocita i hemoglobinu, značajno razlikuju po dužini lečenja hemodijalizom, ukupnom broju leukocita, nivou ukupnih proteina i albumina u serumu. Razlika između ostalih ispitivanih parametara je data u tabeli 4.10.1.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.10.1 Komparacija parametara u grupama sa hemoglobinom većim i manjim od 110

PARAMETAR	Hb <110g/l		Hb ≥110g/l		p
	n	mediana	n	mediana	
starost (god)	52	59 (od 45,50 do 66,00)	25	53 (od 43,75 do 62,50)	0,6595
pol (M %)	52	55,77	25	60,0	0,9176
dužina HD (god)	52	2,75 (od 1,0 do 6,0)	25	5,0 (od 2,0 do 9,0)	0,049
HDF (%)	52	21,15	25	44,0	0,0719
CVK (%)	52	7,692	25	4,0	0,9057
Kt/V	52	1,0600 (od 0,955 do 1,235)	25	1,1100 (od 0,8875 do 1,3475)	0,5210
rest dU (l/24h)	52	0,4 (od 0,00 do 1,00)	25	0,4 (od 0,00 do 0,95)	0,9870
BMI (kg/m ²)	52	27,0350 (od 24,275 do 29,125)	25	24,9000 (od 21,6725 do 29,7650)	0,4595
Uk. prot. (g/l)	52	65,0 (od 62,000 do 69,000)	25	68,0 (od 66,000 do 71,250)	0,0101
albumini (g/l)	52	41,4500 (od 39,200 do 44,250)	25	43,6000 (od 42,675 do 45,400)	0,0022
PTH (pg/ml)	52	131,7000 (od 32,050 do 499,975)	25	194,4000 (od 68,675 do 255,625)	0,7950
Lkci (x10 ⁹ /l)	52	6,5900 (od 5,2950 do 7,6350)	25	7,0600 (od 6,2400 do 8,8375)	0,0372
Rtc (x10 ⁹ /l)	52	43,1 (od 26,650 do 57,000)	25	44,2 (od 26,9500 do 60,5750)	0,8961
Trci (x10 ⁹ /l)	52	205,5000 (od 162,50 do 258,00)	25	205,0000 (od 153,00 do 273,50)	0,9740
SE (mmHg/h)	52	39,0 (od 25,00 do 65,50)	25	32,0 (od 23,750 do 50,000)	0,2466
CRP (mg/l)	52	5,15 (od 2,0500 do 9,7000)	25	3,0 (od 1,6000 do 9,6000)	0,3222
fibrinogen (g/l)	52	3,42 (od 3,0850 do 4,0650)	25	3,51 (od 3,3550 do 4,2625)	0,2672
IL-6 (pg/ml)	52	4,9 (od 2,5000 do 9,0000)	25	4,4 (od 1,0000 do 11,1250)	0,4562
seFe (μmol/l)	52	11,15 (od 8,2000 do 14,5500)	25	10,6 (od 7,7750 do 13,8750)	0,5245
transferin (g/l)	52	1,5150 (od 1,3600 do 1,6600)	25	1,5300 (od 1,3875 do 1,6800)	0,5606
feritin (μg/l)	52	657,8500 (od 340,80 do 978,40)	25	458,1000 (od 352,125 do 736,60)	0,3666
TSAT (%)	52	30,5900 (od 22,945 do 41,535)	25	26,1100 (od 21,0675 do 34,7875)	0,3495
ERI	51	5,4 (od 3,8250 do 8,1000)	17	4,5 (od 2,8500 do 6,2750)	0,0853
nedeljno ESA (IU)	51	4000,0 (od 3000,0 do 5875,0)	17	4000,0 (od 2750,0 do 4500,0)	0,3685
vrsta ESA (dugod %)	51	19,61	17	23,53	0,9999
dužina lečenja (god.)	51	2,0 (od 1,0 do 6,0)	17	2,0 (od 1,0 do 6,25)	0,9943
Hepcidin (ng/ml)	51	97,5000 (od 75,000 do 137,875)	25	80,0000 (od 74,750 do 101,250)	0,1244

Rezultati ispitivanja

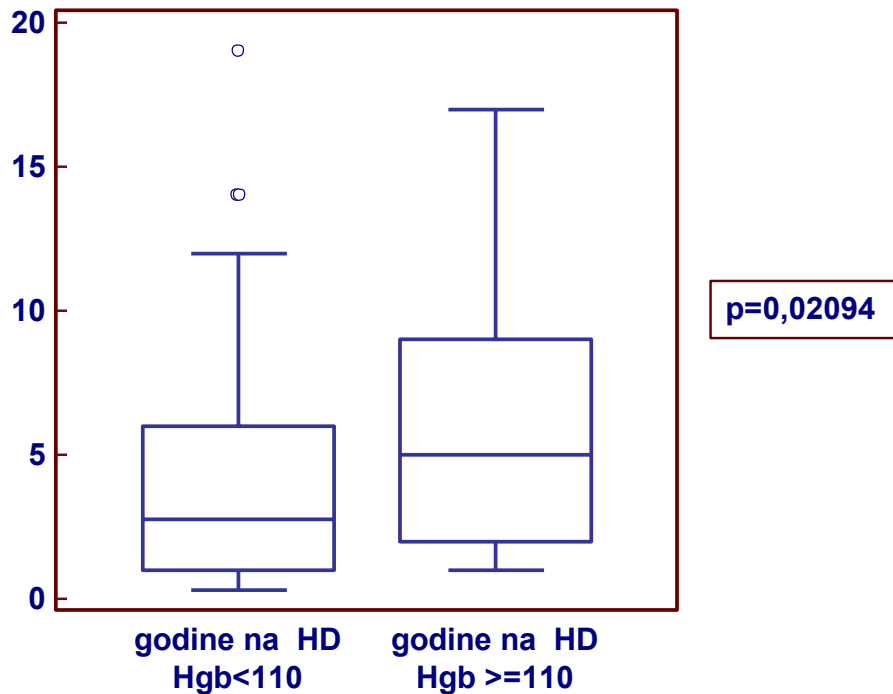
Metodom logističke regresije utvrđeno je da dužina lečenja hemodijalizom i ukupan broj leukocita zadržavaju statistički značajnu povezanost sa nivoom hemoglobina. Rezultati su prikazani na tabeli 4.10.2 i grafikonu 4.10.1

Tabela 4.10.2 Povezanost značajnih parametara i hemoglobina u logističkoj regresiji

PARAMETAR		OR	p
albumini	(g/l)	1,1992	0,08141
Uk. proteini	(g/l)	1,0963	0,1937
dužina HD	(godine)	1,1859	0,02094
Lkci	(x10 ⁹ /l)	1,4414	0,02494

Konstanta: -18,1322 p=0,004

ROC (AUC) = 0,805



Grafikon 4.10.1 Uticaj godina provedenih na dijalizi na hemoglobin

4.11 EFIKASNOST TERAPIJE AGENSOM ZA STIMULACIJU ERITROPOEZE

Efikasnost terapije ESA je značajna zbog brojnih neželjenih pojava povezanih sa ovom terapijom, ali je važna i zbog materijalnog aspekta. Zbog toga je analiziran uticaj različitih faktora na ERI i prosečnu nedeljnu dozu ESA koju su bolesnici dobijali.

ERI je indeks na koji utiču prosečna nedeljna doza ESA / kg TM i vrednosti hemoglobina koje su postignute primenjenom terapijom. U posmatranoj grupi, ERI pozitivno korelira sa nivoom paratiroidnog hormona, a negativno sa ukupnim brojem leukocita u krvi, hemoglobinom, BMI i granično sa starošću bolesnika. Ne postoji povezanost između ERI i ostalih ispitanih parametara, što se vidi iz tabele 4.11.1

Kako je hemoglobin direktno matematički povezan sa ERI, u multivarijantnoj analizi ispitivali smo uticaj PTH, BMI i leukocita na ERI. Kao što se vidi iz tabele 4.11.2, svi ispitivani parametri zadržali su statističku značajnost, a kao najznačajniji nezavisni faktor izdvojio se broj leukocita. Postoji pozitivna korelacija između ERI i PTH, a negativna između ERI i BMI i leukocita. Povezanost između broja leukocita i ERI prikazana je na 4.11.1.

Rezultati ispitivanja

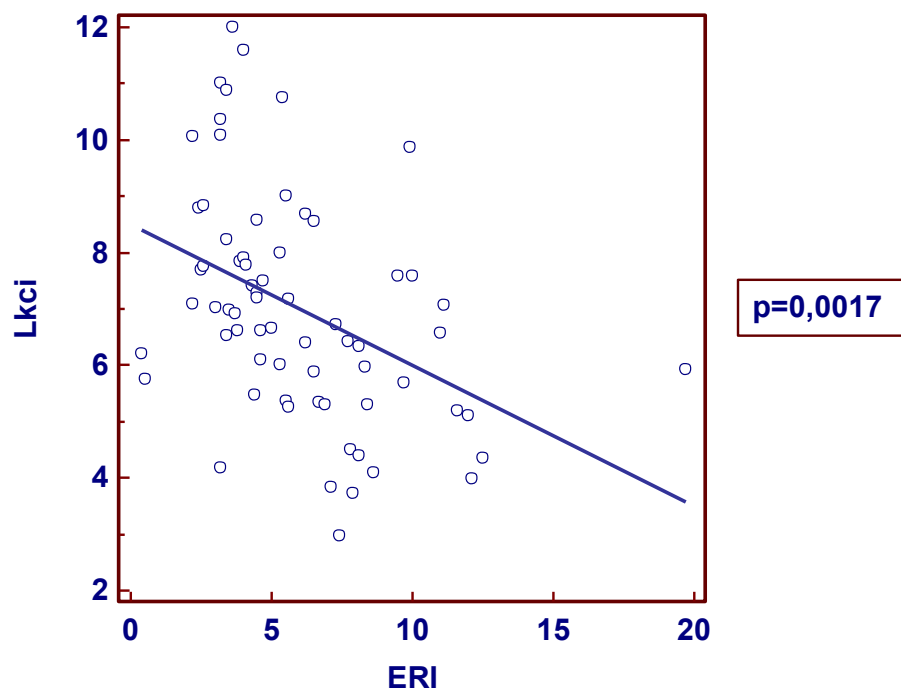
Tabela 4.11.1 Rezultati ispitivanja povezanosti ERI sa različitim parametrima.

PARAMETAR		r/rho/τ n=68	p
starost	(godine)	-0,236	0,0537
pol	(M %)	-0,0783	0,3415
dužina dijalize	(godine)	0,08902	0,4704
vrsta dijalize	(HDF %)	0,0522	0,5347
vaskularni pristup	(CVK %)	-0,102	0,2133
Kt/V		0,1501	0,2219
rest dU	(l/24h)	-0,1658	0,1766
SE	(mmHg/h)	0,04436	0,7195
CRP	(mg/l)	0,06492	0,5989
fibrinogen	(g/l)	-0,1328	0,2803
IL-6	(pg/ml)	0,106	0,3896
Le	($\times 10^9/l$)	-0,4125	0,0005
transferin	(g/l)	-0,1725	0,1594
ferritin	(μ g/l)	0,07367	0,5505
TSAT	(%)	-0,08662	0,4824
seFe	(μ mol/l)	-0,1155	0,3505
Hgb	(g/l)	-0,3947	0,0009
Rtci	($\times 10^9/l$)	-0,07655	0,535
Hepcidin	(ng/ml)	0,1084	0,3824
dužina ESA	(godine)	0,2067	0,0908
vrsta ESA	(%)	0,0314	0,7119
PTH	(pg/ml)	0,2682	0,0282
Ca	(mmol/l)	-0,09895	0,4221
P	(mmol/l)	-0,03619	0,7696
CaxP		-0,06073	0,6227
BMI	(kg/m^2)	-0,3533	0,0031
Uk. proteini	(g/l)	-0,05195	0,6739
albumini	(g/l)	-0,01464	0,9057
urea	(mmol/l)	-0,08619	0,4846
kreatinin	(μ mol/l)	-0,004236	0,9727
ac.uricum	(μ mol/l)	-0,1849	0,1313
ACE inh	(%)	0,0519	0,5365

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.11.2. Povezanost značajnih parametara i ERI u multivarijantnoj analizi

PARAMETAR	korelacioni koeficijent	p
Lkci (x10 ⁹ /l)	-0,5698	0,0017
PTH (pg/ml)	0,001542	0,0247
BMI (kg/m ²)	-0,2276	0,0050
Konstanta 15,5507		p<0,001



Grafikon 4.11.1 Korelacija između nivoa ERI i BMI u multivarijantnoj analizi

Analizirane su korelacije između prosečne nedeljne doze ESA i različitih faktora. Utvrđeno je da u univarijantnoj analizi postoji pozitivna statistički značajna povezanost prosečne nedeljne doze ESA sa IL-6, hepcidinom, dužinom lečenja sa ESA i nivoom paratiroidnog hormona, a negativna statistički značajna poveznost sa starošću bolesnika, vaskularnim pristupom, ukupnim brojem leukocita i nivoom Hb. Korelacije između nedeljne doze ESA i ostalih ispitivanih parametara date su u tabeli 4.11.3.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.11.3 Korelacija nedeljne doze ESA sa različitim ispitivanim parametrima.

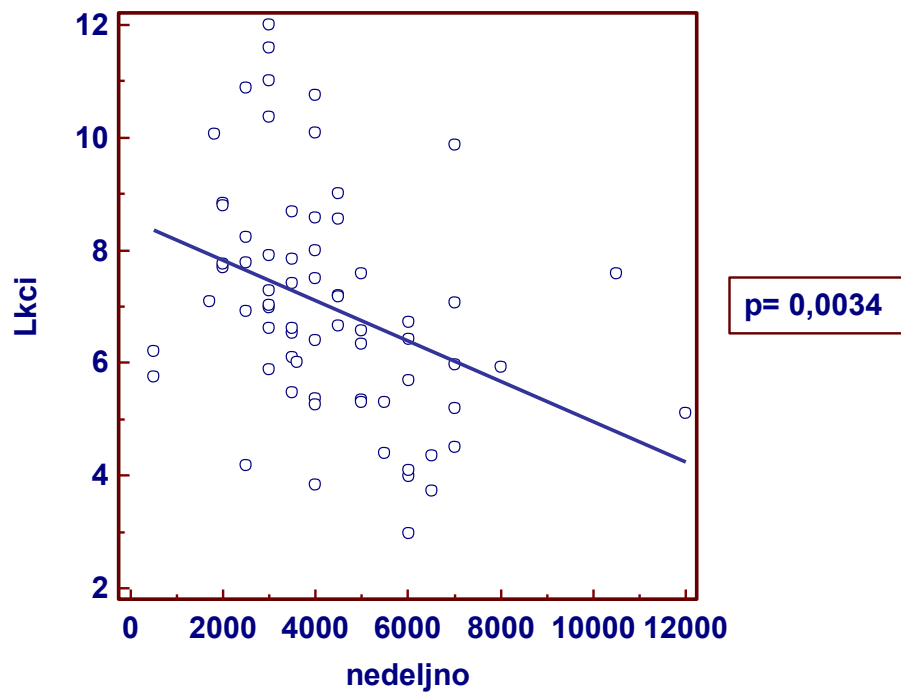
PARAMETAR	r/rho/τ n=68	p
starost (godine)	-0,2713	0,0253
pol (M %)	0,0563	0,5022
dužina dijalize (godine)	0,104	0,3998
vrsta dijalize (HDF %)	0,051	0,5445
vask. pristup (CVK %)	-0,166	0,0444
Kt/V	-0,00995	0,9358
rest dU (l/24h)	-0,1745	0,1548
SE (mmHg/h)	0,02309	0,8517
CRP (mg/l)	0,06635	0,5909
fibrinogen (g/l)	-0,1245	0,3117
IL-6 (pg/ml)	0,2904	0,0163
Le ($\times 10^9/l$)	-0,3633	0,0023
transferin (g/l)	-0,07299	0,5542
feritin ($\mu g/l$)	0,1936	0,1137
TSAT (%)	-0,08986	0,4662
seFe ($\mu mol/l$)	-0,09115	0,4597
Hgb (g/l)	-0,2485	0,041
Rtci ($\times 10^9/l$)	-0,1017	0,4094
Hepcidin (ng/ml)	0,2593	0,0341
dužina ESA (godine)	0,2412	0,0476
vrsta ESA (dugod. %)	0,0174	0,8412
PTH (pg/ml)	0,3628	0,0026
Ca (mmol/l)	0,001133	0,9927
P (mmol/l)	0,04048	0,7431
CaxP	0,04119	0,7388
BMI (kg/m^2)	0,00917	0,9411
Uk. protein (g/l)	-0,04748	0,7006
albumini (g/l)	0,1566	0,2023
urea (mmol/l)	-0,03564	0,773
kreatinin ($\mu mol/l$)	0,1833	0,1347
ac.uricum ($\mu mol/l$)	-0,07597	0,5382
ACE inh (%)	0,0216	0,8088

Multivarijantna analiza parametara koji utiču na nedeljnu dozu ESA je pokazala da u ispitivanoj grupi postoji negativna korelacija između nedeljne doze ESA i starosti bolesnika, vaskularnog pristupa i broja leukocita u krvi, kao i pozitivna korelacija sa hepcidinom. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 4.11.4 i grafikonima 4.11.2 i 4.11.3.

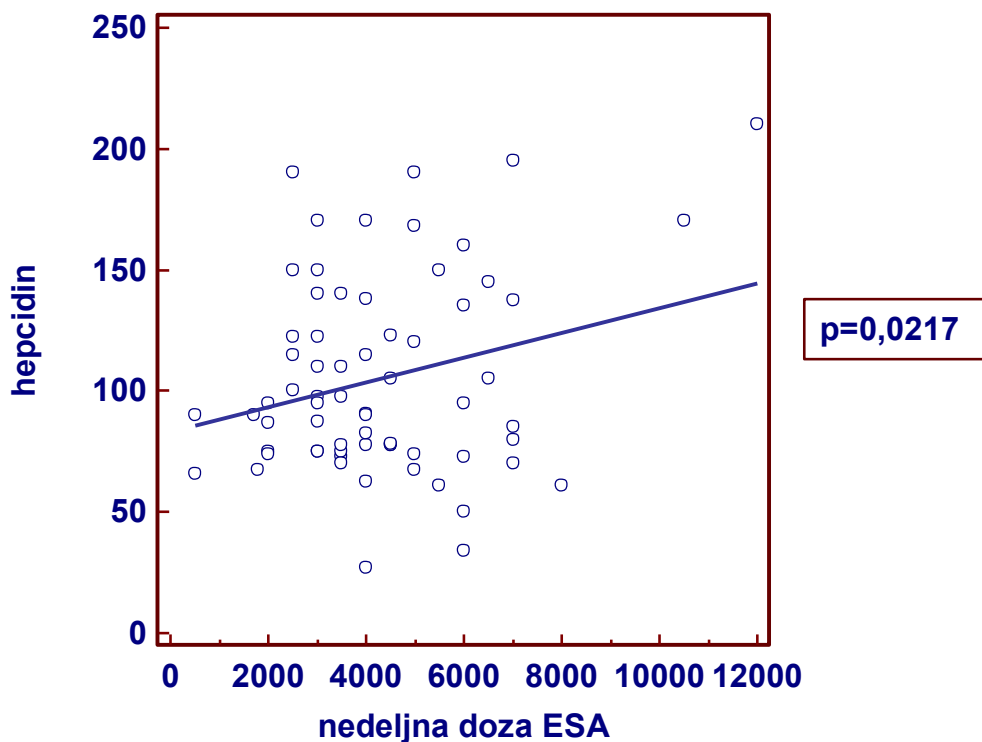
Rezultati ispitivanja

Tabela 4.11.4 Povezanost značajnih parametara i nedeljne doze ESA u multivarijantnoj analizi

PARAMETAR		koeficijent korelacije	P
starost	(godine)	-41,6897	0,0100
vaskularni pristup	(CVK %)	-1829,0503	0,0265
IL-6	(pg/ml)	24,1684	0,0577
Lkci	(x10 ⁹ /l)	-372,8819	0,0034
Hgb	(g/l)	-0,9034	0,9680
hepcidin	(ng/ml)	13,1503	0,0217
dužina lečenja ESA	(godine)	-19,1841	0,7940
PTH	(pg/ml)	-0,7439	0,0994
Konstanta = 7711,5151			p<0,001



Grafikon 4.11.2 Korelacija između nedeljne doze ESA i leukocita u krvi



Grafikon 4.11.3. Korelacija između nedeljne doze ESA i nivoa hepcidina u serumu

4.12 C- REAKTIVNI PROTEIN

Uremija se smatra stanjem hronične inflamacije. C- reaktivni protein (CRP) je marker inflamacije koji zbog svoje senzitivnosti i dostupnosti ima veliki klinički i praktični značaj u svakodnevnom praćenju obolelih. Zbog toga smo upravo CRP uzeli za reprezenta svih markera inflamacije.

U odnosu na nivo CRP bolesnici su podeljeni u dve grupe: sa $CRP > 5 \text{ mg/l}$, za koje smo smatrali da su u inflamaciji i one sa $CRP \leq 5 \text{ mg/l}$, za koje smo smatrali da su bez inflamacije. Iako su svi bolesnici bili bez kliničkih znakova inflamacije, prema laboratorijskim pokazateljima, u inflamaciji je bilo njih trideset i četiri (44,2%). Komparirani su različiti ispitivani parametri u dve ispitivane grupe. Statistički značajna razlika postoji u vrednostima Kt/V, indeksu telesne mase, hemoglobinu, serumskom gvožđu, TSAT i svim parametrima inflamacije. Ne postoji statistički značajna razlika u nivou hepcidina između ove dve grupe ispitanika. Analiza ostalih parametara data je u tabeli 4.12.1.

Rezultati ispitivanja

Tabela br. 4.12.1 Rezultati poređenja dve grupe bolesnika sa CRP većim i manjim od 5

PARAMETAR	CRP≤5 mg/l n=43	CRP>5 mg/l n=34	p
Starost (godine)	53,0930 +/-14,5517	57,7353+/-11,9704	0,1376
Dužina HD (godine)	5,4837 +/-4,8398	4,0956+/-3,2983	0,1570
HDF (%)	17,65	37,21	0,1025
CVK (%)	11,76	2,326	0,2291
Kt/V	1,1670 +/-0,2338	0,9965+/-0,2246	0,0018
BMI (kg/m ²)	25,5114+/-3,8091	28,0885+/-5,1537	0,0138
Erci (10 ¹² /l)	3,3856+/-0,5013	3,1938+/-0,886	0,0703
Hgb (g/l)	107,5721+/-15,0481	99,7294+/-13,5115	0,0201
Rtci (x10 ⁹ /l)	43,1907+/-22,9070	42,7+/-25,5099	0,9295
seFe (μmol/l)	13,3000+/-6,4124	10,2706+/-3,5021	0,0155
Transferin (g/l)	1,5267+/-0,1823	1,4897+/-0,2744	0,4807
Feritin (μg/l)	672,1744+/-475,4000	672,3147+/-403,7095	0,9989
TIBC (μmol/l)	38,1686+/-4,5574	37,2215+/-6,8378	0,4693
TSAT (%)	35,9998+/-20,5187	28,3700+/-10,8212	0,0535
SE (mmHg/h)	29,1628+/-19,5825	60,6176+/-29,4773	<0,0001
Fibrinogen (g/l)	3,3319+/-0,6061	3,8788+/-0,6837	0,0004
IL-6 (pg/ml)	3,7721+/-3,2029	16,0471+/-26,0263	0,0030
ERI (n=36)	5,8389+/-2,9493	6,1212+/-3,7621	0,7302
Nedeljno ESA (n=36/32) (IU)	4083,3333+/-1753,6085	4534,3750+/-2350,5126	0,3694
Vrsta ESA (n=36/32) (%)	25,0	15,6	0,5128
Dužina ESA (n=36/32) (god)	3,7361+/-3,3134	3,6562+/-2,9056	0,9166
Hepcidin (ng/ml)	101,5233+/-38,8268	105,2121+/-40,1468	0,6870

Parametri koji su se izdvojili po svojoj statističkoj značajnosti, dodatno su analizirani logističkom regresijom. U tabeli broj 4.12.2 se vidi da je sprovedena analiza potvrdila postojanje korelacije između vrednosti CRP i indeksa Kt/V, hemoglobina u krvi, i drugih markera inflamacije, sedimentacije eritrocita i interleukina-6.

Tabela br. 4.12.2 Povezanost značajnih parametara i CRP u logističkoj regresiji

PARAMETAR	OR	p
Kt/V	0,0031	0,02392
BMI (kg/m ²)	1,2876	0,1446
Hb (g/l)	0,8439	0,0162
SeFe (μmol/l)	0,6215	0,2032
TSAT (%)	1,0708	0,5461
SE (mmHg/h)	1,0689	0,0243
Fibrinogen (g/l)	2,1771	0,4177
IL-6 (pg/ml)	1,6599	0,007579

Konstanta: 11,7102 p<0,0001

ROC (AUC): 0,958

Posebno analizirali grupu sa CRP>5, da bismo utvrdili šta utiče na nivo hepcidina u grupi bolesnika koji su u stanju inflamacije. U univarijantnoj analizi dobijena je statistički značajna pozitivna korelacija hepcidina sa dužinom i vrstom dijalize, IL-6, feritinom, TSAT, nedeljnom dozom ESA i dužinom lečenja sa ESA. Hepcidin negativno korelira sa transferinom. U tabeli 4.12.3 se vidi da ostali ispitivani parametri nisu statistički značajno korelirali sa hepcidinom.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.12.3 Rezultati korelacije hepcidina sa različitim parametrima u grupi bolesnika sa CRP>5

PARAMETAR		r/rho/ τ	p
godine	(godine)	-0,2924	0,0987
pol	(M %)	0,0899	0,4769
dužina dijalize	(godine)	0,4787	0,0048
vrsta dijalize	(HDF %)	0,343	0,0055
vaskularni pristup	(CVK %)	0,192	0,1236
Kt/V		0,181	0,3134
rest dU	(l/24h)	-0,2854	0,1074
SE	(mmHg/h)	-0,04279	0,8131
CRP	(mg/l)	0,1543	0,3912
fibrinogen	(g/l)	-0,1143	0,5264
IL-6	(pg/ml)	0,3774	0,0304
Le	($\times 10^9/l$)	0,1345	0,4556
transferin	(g/l)	-0,399	0,0214
feritin	($\mu\text{g/l}$)	0,6668	<0,0001
TSAT	(%)	0,2929	0,00981
seFe	($\mu\text{mol/l}$)	0,08227	0,649
Erci	($\times 10^{12}/l$)	-0,2109	0,2388
Hgb	(g/l)	-0,1191	0,509
Rtci	($\times 10^9/l$)	0,1049	0,5613
ERI (n=31)		0,1809	0,3302
nedeljno ESA (n=31)	(IU)	0,4509	0,0109
dužina ESA	(godine)	0,4598	0,0093
vrsta ESA	(dugod. %)	0,0723	0,592

Multivarijantna analiza parametara koji utiču na serumski nivo hepcidina je pokazala da se u ispitivanoj grupi feritin izdvojio kao jedini parameter koji utiče na nivo hepcidina. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 4.12.4.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.12.4. Povezanost značajnih parametara sa hepcidinom kod bolesnika u inflamaciji u multivarijantnoj analizi.

PARAMETAR		koeficijent korelacije	P
dužina dijalize	(godine)	-2,0246	0,7050
vrsta dijalize	(%)	24,9455	0,2368
IL-6	(pg/ml)	0,1621	0,5230
transferin	(g/l)	-41,3863	0,1263
feritin	(µg/l)	0,04885	0,0312
TSAT	(%)	-0,6186	0,3782
dužina lečenja ESA	(god)	3,6669	0,5732
nedeljna doza ESA	(IU)	-0,00009431	0,9777
Konstanta = 142,4605			p<0,001

Rezultati ispitivanja

4.13 FERITIN

Vrednost feritina od 500 μ g/l predstavlja granicu nakon koje nije potrebno supstituisati bolesnike parenteralim preparatima gvožđa. Bolesnici su podeljeni u dve grupe u odnosu na ovaj nivo feritina, te je analizirana razlika između ispitivanih parametara. Ispitivane grupe su se statistički značajno razlikovale po nivou IL-6, svim parametrima metabolizma gvožđa, dužini lečenja ESA i nivou hepcidina u serumu. Razlike između ostalih ispitivanih parametara date su u tabeli 4.13.1.

Tabela 4.13.1 Komparacija nalaza u grupama sa feritinom manjim i većim od 500

PARAMETAR	FERITIN<500 n=40	FERITIN>500 n=37	P
starost (godine)	53,1 +/- 15,1010	57,3514 +/- 11,5355	0,1717
dužina HD (godine)	4,0950 +/-3,8766	5,7095 +/- 4,5436	0,0969
HDF (%)	22,5%	35,14%	0,3300
CVK (%)	7,5%	5,4	0,9289
Kt/V	1,0883 +/-0,2766	1,0954 +/- 0,2060	0,8993
rest dU (l/24h)	0,5390 +/- 0,5262	0,4068 +/- 0,4831	0,2556
Hgb (g/l)	106,0475 +/-16,3391	99,0808 +/-20,5963	0,1030
Rtc (x10 ⁹ /l)	45,4150 +/-23,7636	44,4703 +/-24,5957	0,8644
SE (mmHg/h)	37,2750 +/- 26,2024	49,2973 +/-30,7371	0,0681
CRP (mg/l)	6,9500 +/- 9,0772	10,6081 +/- 17,3335	0,1428
fibrinogen (g/l)	3,4617 +/- 0,7083	3,6941 +/- 0,6652	0,2447
IL-6 (pg/ml)	4,8350 +/- 4,1706	13,927 +/- 25,4876	0,0295
seFe (μ mol/l)	9,8975 +/-3,5427	14,1946 +/-6,3717	0,0004
transferin (g/l)	1,5887 +/-0,1909	1,4257 +/-0,2342	0,0012
feritin (μ g/l)	336,6075 +/-106,7350	1035,0784 +/- 40,3,7403	<0,0001
TIBC (μ mol/l)	39,70000 +/-4,7543	35,6427 +/-5,8556	<0,0001
TSAT (%)	25,1517 +/-9,3725	40,7162 +/- 20,1178	<0,0001
ERI (n=34)	6,0906 +/-3,7989	5,8529 +/- 2,8463	0,7712
nedeljno ESA (n=34) (IU)	4147 +/-1690,1202	4444,1176 +/- 2377,8257	0,5546
vrsta ESA (n=34) (%)	23,53%	17,65%	0,7644
dužina lečenja (n=34) (god)	3 +/-2,9310	4,3971 +/- 3,1594	0,0525
hepcidin (ng/ml)	84,8250 +/- 27,6991	(n=36)123,4583 +/-40,336	<0,0001

Rezultati ispitivanja

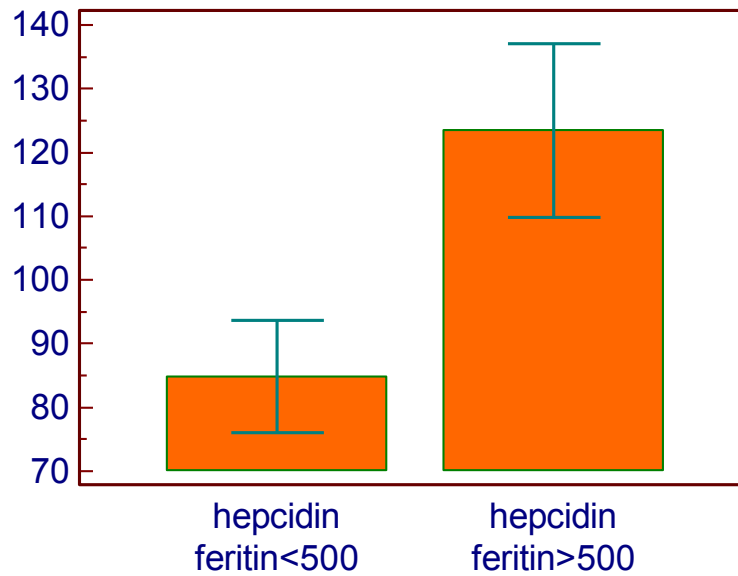
Logističkom regresijom (tabela 4.13.2) izdvojio se jedino hepcidin kao nezavisni faktor po kome su se ove dve grupe razlikovale. Razlike u vredostima hepcidina u ispitivanim grupama prikazane su na grafikonu 4.13.1.

Tabela 4.13.2 Povezanost značajnih parametara i feritina u logističkoj regresiji

PARAMETAR	OR	p
IL-6 (pg/ml)	1,0568	0,3398
SeFe (μmol/l)	1,5869	0,5511
transferin (g/l)	0,0360	0,5838
TSAT (%)	0,9306	0,8040
dužina ESA (godine)	1,1401	0,2371
hepcidin (ng/ml)	1,0306	0,007185

Konstanta: -2,0839 p<0,0001

ROC (AUC): 0,889



Grafikon 4.13.1 Serumski nivo hepcidina u grupama bolesnika sa feritinom manjim i većim od 500 μg/l

Rezultati ispitivanja

U grupi od 37 bolesnika koji su prema nivou feritina imali popunjene telesne zalihe gvožđa, analiziran je uticaj različitih faktora na nivo hemoglobina. U univarijantnoj analizi, statistički značajna negativna povezanost hemoglobina utvrđena je sa feritinom, indeksom rezistencije na eritropoetin, nedeljnom dozom ESA i hepcidinom. Povezanost između ostalih ispitivanih parametara i hemoglobina prikazana je u tabeli 4.13.3.

Tabela 4.13.3 Korelacija nivoa hemoglobina i različitih ispitivanih faktora u grupi bolesnika sa feritinom većim od 500 µg/l

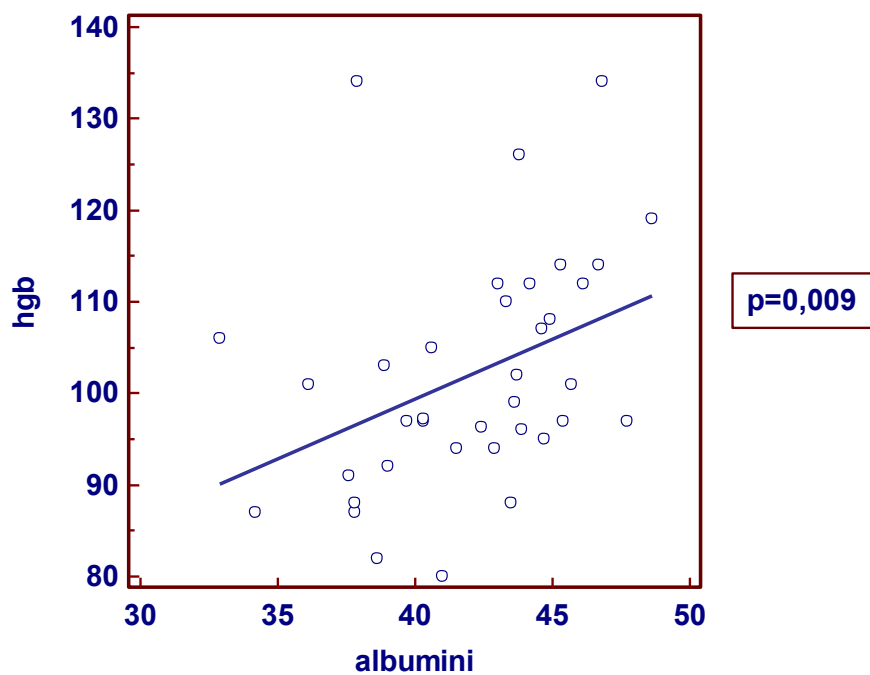
PARAMETAR		r/rho/τ (n=36)	p
seFe	(µmol/l)	-0,1935	0,2513
transferin	(g/l)	0,1995	0,2359
feritin	(µg/l)	-0,3782	0,0210
TIBC	(µmol/l)	0,1997	0,2360
TSAT	(%)	-0,2200	0,1908
SE	(mmHg/h)	-0,2798	0,0935
CRP	(mg/l)	-0,1312	0,4388
fibrinogen	(g/l)	0,2302	0,1705
IL-6	(pg/ml)	-0,1010	0,5521
Rtci	(x10 ⁹ /l)	0,1642	0,3314
ukupni proteini	(g/l)	0,2071	0,2186
albumini	(g/l)	0,3847	0,0187
ERI (n=33)		-0,5687	0,0004
nedeljno ESA (n=33)	(IU)	-0,3447	0,0459
vrsta ESA (n=33)	(dugod. %)	0,0462	0,7214
dužina ESA (n=33)	(godine)	0,04043	0,8204
Hepcidin	(ng/ml)	-0,4315	0,0086

U grupi bolesnika sa popunjenim rezervama gvožđa, multivarijantna analiza je izdvojila albumine i nedeljnu dozu ESA kao jedine nezavisne faktore koji utiču na nivo hemoglobina u krvi. Feritin i hepcidin, kao što se vidi u tabeli 4.13.4, nisu postigli statistički značajnu povezanost. Korelacija između nivoa hemoglobina i albumina u grupi bolesnika sa feritinom >500 µg/l prikazana je na grafikonu 4.13.2.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.13.4 Povezanost hemoglobina i ispitivanih parametara u multivarijantnoj analizi kod bolesnika sa feritinom >500 µg/l

PARAMETAR		koeficijent korelacije	P
feritin	(µg/l)	-0,006532	0,0795
albumini	(g/l)	1,4455	0,009
nedeljna doza ESA	(IU)	-0,001487	0,0368
hepcidin	(ng/ml)	-0,01706	0,6880
Konstanta = 51,8580			p=0,001



Grafikon 4.13.2. Korelacija između nivoa hemoglobina i albumina u grupi bolesnika sa feritinom >500 µg/l

Rezultati ispitivanja

U istoj grupi analizirana je uticaj različitih faktora na nivo hepcidina u serumu. Postoji statistički značajna pozitivna korelacija hepcidina sa feritinom, i indeksom rezistencije na eritropoetin. Uticaj ostalih ispitivanih parametara dat je u tabeli 4.13.5.

Tabela 4.13.5 Korelacija nivoa hepcidina i različitih ispitivanih faktora u grupi bolesnika sa feritnom većim od 500 µg/l

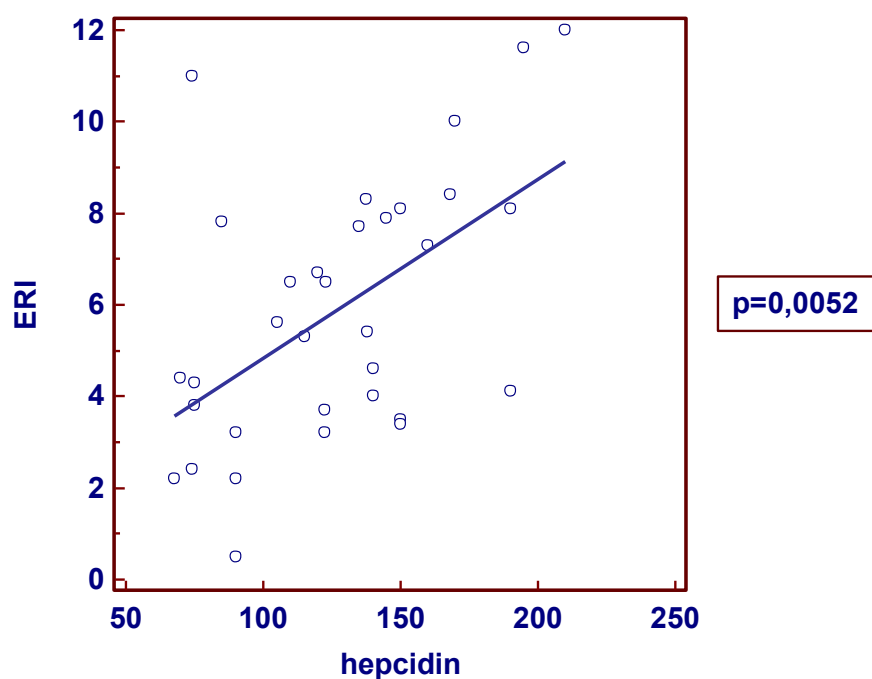
PARAMETAR		r/rho/τ (n=36)	p
seFe	(µmol/l)	0,2699	0,1115
transferin	(g/l)	-0,1115	0,5172
feritin	(µg/l)	0,4662	0,0042
TIBC	(µmol/l)	-0,1116	0,5162
TSAT	(%)	0,3088	0,0669
SE	(mmHg/h)	-0,07732	0,640
CRP	(mg/l)	0,1051	0,5419
fibrinogen	(g/l)	-0,09382	0,5863
IL-6	(pg/ml)	0,2287	0,1798
Hgb	(g/l)	-0,08311	0,6299
Rtci	(x10 ⁹ /l)	0,1299	0,4502
ERI (n=33)		0,5397	0,0012
nedeljno ESA (n=33)	(IU)	-0,3458	0,3458
vrsta ESA (n=33)	(dugod. %)	-0,112	0,3458
dužina ESA (n=33)	(godine)	0,08213	0,6496

Multivarijantna analiza je potvrdila statistički značajnu korelaciju između serumskog nivoa hepcidina i vrednosti feritina i ERI kod bolesnika sa vrednostima feritina >500 µg/l. Kao statistički značajniji faktor izdvojio se ERI, što je prikazano u tabeli 4.13.6 i grafikonu 4.13.3.

Rezultati ispitivanja

Tabela 4.13.6 Korelacija hepcidina i različitih ispitivanih faktora u multivarijantnoj analizi kod bolesnika sa vrednostima feritina $>500 \mu\text{g/l}$

PARAMETAR	koeficijent korelacije	P
feritin ($\mu\text{g/l}$)	0,0298	0,0472
ERI	6,2605	0,0052
Konstanta = 58,1315		p=0,001



Grafikon 4.13.3 Korelacija između ERI i hepcidina kod bolesnika sa vrednostima feritina $>500 \mu\text{g/l}$

5. DISKUSIJA

Ispitivanje je sprovedeno kao studija preseka i obuhvatilo je 77 bolesnika u V stadijumu HBB, koji su lečeni hroničnim programom HD na Odeljenju za hemodijalizu, Klinike za nefrologiju i kliničku imunologiju, Kc Vojvodine. Odabir bolesnika i uzorkovanje materijala trajalo je 12 meseci u toku 2013. i 2014. godine.

Analizom polne strukture bolesnika koji su uključeni u ispitivanje (grafikon 4.1), utvrdili smo da su većinu činili muškarci (57%). Medijana starosti je bila 57 godina. Najveći broj bolesnika je bio u starosnim grupama između 51. i 60. godine i između 61. i 70. godine, dok su samo dva bolesnika bila u starosnoj grupi od 21. do 30. godine (grafikon 4.2). Prema podacima iz godišnjeg izveštaja o lečenju metodama za zamenu bubrežne funkcije Udruženja nefrologa Srbije za 2009. godinu, prosečna starost bolesnika je bila 57,1 \pm 16 godina, a muškarci su činili 60% bolesnika (163). Odeljenje za hemodijalizu Kc Vojvodine je regionalni dijalizni centar u kome se dijaliziraju najteži bolesnici, dok se oni koji su boljeg opšteg stanja, klinički stabilni i mlađi, najčešće usled nedostatka mesta, upućuju u druge dijalizne centre u Novom Sadu i okolini. Na ovaj način bi se mogla objasniti starosna struktura u ispitivanoj populaciji.

Najčešći uzrok HBB u ispitivanoj grupi bolesnika je bila vaskularna bolest bubrega, odnosno nefroangioskleroza, kod 31,17% bolesnika (grafikon 4. 3). Na drugom mestu po učestalosti su dijabetesna nefropatija kod 22,08% bolesnika i različiti oblici glomerulonefritisa u jednakom procentu bolesnika. Kao ređi uzročnici HBB pojavljuju se nefrolitijaza (2,6%), opstruktivna nefropatija (6,5%), hronični pijelonefritis (5,2%), policistični bubrezi (5,2%) ili veziko-ureteralni refluks (5,2%). Prema ovim podacima, ispitivana grupa je slična razvijenim zemljama gde su najčešći uzročnici HBB šećerna bolest, hipertenzija i primarni glomerulonefritisi, a u znatno manjem procentu HBB nastaje zbog hroničnog intersticijalnog nefritisa, opstrukcije, naslednih ili cističnih bolesti, sekundarnih glomerulonefritisa ili vaskulitisa, neoplazmi i drugih uzroka (5). U zemljama u razvoju značajan uticaj imaju infekcije i štetno dejstvo različitih toksina i lekova (6). U odnosu na podatke koje je iznela Đukanović i sar. (2), koja navodi da je u našoj zemlji HBB najčešće posledica primarnih glomerulonefritisa, zatim naslednih cističnih bolesti bubrega, uz oštećenja nastala kao posledica hipertenzije, šećerne bolesti i tubulointersticijumskih nefritisa, uključujući i Balkansku endemsku nefropatiju, u našoj grupi primarni glomerulonefritisi, nasledna cistična bolest i tubulointersticijalni nefritisi bili su manje

zastupljeni. Jedan od razloga za ovu razliku bi mogla biti i činjenica da bolesnici koji su bili na imunosupresivnoj terapiji nisu uključeni u ispitivanje.

U odnosu na osnovnu bolest, bolesnici su podeljeni u četiri grupe: bolesnici sa NAS, bolesnici sa DM, bolesnici sa GN i ostali. Ove četiri grupe su zatim međusobno upoređene u odnosu na srednje vrednosti hepcidina, hemoglobina i ERI. Analiza je pokazala da ne postoji statistički značajna razlika između ispitivanih parametara, bez obzira na uzrok osnovne bolesti (tabele 4.8.2.2 i 4.8.2.3). Van der Weerd i sar. su utvrdili da je nivo hepcidina u pozitivnoj korelaciji sa DM kao osnovnim uzrokom HBB što u našoj studiji nije utvrđeno (168).

Osim osnovnog oboljenja koje je dovelo do terminalnog stadijuma HBB, kod ispitivanih bolesnika bila su prisutna i oboljenja drugih organa i organskih sistema (grafikon 4.5.1). Najzastupljenija su bila oboljenja kardiovaskularnog sistema, koja su bila prisutna kod 92% bolesnika (grafikon 4.5.2). Poznato je ova populacija bolesnika, osim tradicionalnih faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih oboljenja, često ima i faktore rizika povezane sa uremijom (22). Hipertenzija je bila zastupljena kod 87% bolesnika, što približno odgovara i literaturnim navodima (27). Od šezdeset i sedam bolesnika koji boluju od hipertenzije, kod dvadeset i dvoje je na početku dijalize zabeležen povišen krvni pritisak, što znači da trećina bolesnika nema zadovoljavajuće lečenu hipertenziju. Kod trideset devet (50,6%) bila je prisutna izolovana sistolna hipertenzija, dok je izolovana dijastolna hipertenzija bila prisutna kod tri bolesnika (3,9%). Povišene vrednosti i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska bile su izmerene kod trinaest bolesnika (16,9%). Ovakvi nalazi su u skladu sa podacima koje je izneo Agarwal R (39). Različiti oblici kardiomiopatija bili su prisutni kod 67,5% naših bolesnika, što je manje nego što je prikazao Middleton RJ (23). Ishemijsku bolest srca imalo je 10,4% bolesnika. Smatra se da je prevalencija ishemijske bolesti srca oko 40% (23). Sigurno da je procenat bolesnika sa ishemijom srčanog mišića i veći, ukoliko bismo posmatrali sve bolesnike koji se nalaze na hroničnom programu hemodijalize u našem dijaliznom centru. Međutim, kod određenog broja bolesnika zbog ozbiljnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih incidenata ne primenjujemo ESA u lečenju anemije, te takvi bolesnici nisu bili uključeni u ispitivanje. Uremija se smatra proaritmogenim stanjem (35), s tim da su značajnije srčane aritmije kod naših bolesnika zabeležene u svega 6 slučajeva (7,8%).

Od endokrinoloških poremećaja, najzastupljeniji je bio sekundarni hiperparatireoidizam, koji se javio kod trideset i četiri bolesnika (44,2%). I u literaturnim podacima se navodi da je ovo česta komplikacija u uznapredovalim stadijumima HBB (69). Šećerna bolest, sa svojim mikro- i

makroangiopatskim komplikacijama je bila zastupljena kod sedamnaest bolesnika (22,1 %). Oboljenja štitaste žlezde bila su prisutna kod sedam bolesnika (9,1%). Prema literaturnim podacima snižene vrednosti tiroidnih hormona ima 30% obolelih u V stadijumu HBB, a 8% ima subklinički hipotireoidizam (69). Drugi poremećaji žlezda sa unutrašnjim lučenjem nisu postojali u ispitivanoj grupi bolesnika (grafikon 4.5.4).

Oboljenja sistema organa za varenje bila su treća po učestalosti u posmatranoj populaciji bolesnika. Najčešće se radilo o hroničnom gastroduodenitisu, što je i u skladu sa podacima iz literature (64, 65) (grafikon 4.5.3). Ulkus želuca i duodenuma, koji se smatraju značajnim uzrokom morbiditeta i mortaliteta bolesnika na hemodijalizi (64, 65), kod nas su zabeleženi kod samo pet odnosno četiri bolesnika, kojima su ranije u toku bolesti nakon endoskopskog ispitivanja postavljene navedene dijagnoze, a koji su u dužem vremenskom periodu bili bez znakova krvarenja iz gastrointestinalnog trakta. Razlog za manju incidenciju ulkusa kod naših ispitanika je činjenica da su u sprovedeno ispitivanje uključeni bolesnici kod kojih je bila prisutna anemija nastala u sklopu hronične bolesti, a ne kao posledica gubitka krvi ili nekog drugog razloga.

Oboljenja sistema organa za disanje bila su prisutni kod 18,2% naših bolesnika i u najvećem broju slučajeva su se manifestovala kao hronična opstruktivna bolest pluća (grafikon 4.5.5). Oboljenja koja se smatraju čestima kod bolesnika u uremiji, kao što su uremijska pluća i efuzija pleure (42), kod nas su zabeležena u pojedinačnim slučajevima. Imali smo samo jedan slučaj plućne tuberkuloze, koja se takođe može javiti kod bolesnika na dijalizi (42). Najverovatniji razlog za ovu disproporciju je činjenica da su ispitivanjem obuhvaćeni samo bolesnici koji su bili klinički stabilni i kod kojih najmanje šest nedelja nisu primenjivani antibiotici ili neki drugi lekovi koji bi mogli uticati na nivo hepcidina.

Neurološke komplikacije uremije bile su prisutne u formi uremijske polineuropatije kod četiri bolesnika (5,2%). Uremijska polineuropatija smatra se najčešćim neurološkim oboljenjem kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB (72). Osim polineuropatije, zabeleženi su slučajevi organskog psihosindroma kod dva i neurološke sekvele nakon cerebro-vaskularnih incidenata kod četiri ispitanika. Kako su cerebrovaskularna oboljenja kontraindikacija za primenu ESA, određen broj bolesnika koji se leči hroničnim programom hemodijalize na našem Odeljenju nije mogao biti obuhvaćen sprovedenim ispitivanjem.

Svi bolesnici uključeni u ispitivanje nalazili su se na hroničnom programu hemodijalize tokom najmanje tri meseca, a prosečno 4,87 godina +/-4,26. Svi su dijalizirani tri puta nedeljno,

po četiri sata, što se smatra i standardnom procedurom (100). Većina ispitanika je lečena hemodijalizom (HD), njih pedeset i pet (71%), dok je kod dvadeset i dva (29%) primenjivana hemodijafiltracija (HDF) (grafikon 4.4.1). U okviru hemodijalize, primenjivane su metode niskoprotočne (HD LF) kod 48% bolesnika i visokoprotočne (HD HF) hemodijalize kod 23% bolesnika. Ovi procenti posledica su zakonskih regulativa koje se primenjuju na Odeljenju za hemodijalizu Kc Vojvodine. Za ispitivanje doze i adekvatnosti dijalize korišten je koeficijent Kt/V . Ovaj koeficijent predstavlja odnos klirensa uree dijalizatora (K) tokom trajanja dijalizne procedure (t) i volumena tečnosti u organizmu, u kome se urea nalazi i izračunavan je prema Daugirdasovoj formuli (101). Ciljna vrednost koeficijenta kojoj treba težiti da je $Kt/V > 1,4$ (97). Srednja vrednost Kt/V kod naših bolesnika je bila $1,09 \pm 0,24$. Multivarijantna analiza je izdvojila vrstu dijalizne procedure kao jedini nezavisni faktor koji utiče na Kt/V , dok starost bolesnika i vrsta vaskularnog pristupa nisu pokazali statističku značajnost (Tabela 4.4.1.) što je u skladu sa stavovima da je HDF metoda koja omogućuje bolje prečišćavanje krvi od čitavog spektra uremijskih toksina različite molekulske mase u poređenju sa HD (99). Starost bolesnika je u univarijantnoj analizi pokazala statistički značajnu povezanost sa koeficijentom Kt/V , ali se u multivarijantnoj analizi ta značajnost izgubila obzirom da se metoda HDF, u našem Odeljenju za hemodijalizu uglavnom primenjuje kod mlađih bolesnika. Kao vaskularni pristup za potrebe HD koristili smo arterio-vensku fistulu (AVF) kod 94% bolesnika, a dvolumenski centralni venski kateter (CVK) kod 6 % bolesnika (Grafikon 4.4.5). CVK koristili smo kod bolesnika koji su nedavno započeli aktivno lečenje hemodijalizom, ili, u slučaju tromboze AVF. Kako je 89,6% ispitanika bilo na hroničnom programu hemodijalize duže od godinu dana, jasno je zbog čega postoji ovako velika dispropocija u zastupljenosti vaskularnog pristupa. Kao što je već rečeno, vrsta vaskularnog pristupa nije uticala na vrednosti koeficijenta Kt/V , ali je postojala značajna povezanost sa dva najvažnija parametra inflamacije, CRP (grafikon 4.4.6) i IL-6 (grafikon 4.4.7). Takvu povezanost utvrdili su i drugi istraživači (165,166). Bolesnici u uremiji nalaze se u stanju hronične inflamacije, do koje dovode dve osnovne grupe faktora: faktori povezani sa samim bolesnikom i faktori povezani sa dijaliznom procedurom. Najznačajniji faktori povezani sa dijaliznom procedurom uključuju bioinkompatibilnost dijaliznih membrana, kontaminacija dijalizata, prisustvo acetata u dijalizatu, infekcije vaskularnog pristupa i drugi (81). Kod svih naših bolesnika primenjivane su biokompatibilne polisulfonske dijalizne membrane i bikarbonatna tečnost za dijalizu. To znači, da je među faktorima povezanim sa dijaliznom procedurom kod naših bolesnika vrsta vaskularnog pristupa najznačajnija za pojavu inflamacije.

Jedan od uslova za uključivanje u ispitivanje bilo je i odsustvo kliničkih znakova akutne inflamacije. Udruženost CVK i infekcije uslovlila je da određeni broj bolesnika ne ispuni ovaj kriterijum za uključenje u ispitivanje.

Kod svih bolesnika analizirali smo standardne parametre hematopoeze (tabela 4.6.1.1). Anemija je česta komplikacija HBB čija incidencija se povećava sa napredovanjem bolesti, tako da je, prema literaturnim podacima (45) u V stadijumu HBB prisutna u preko 90% obolelih. Naše ispitivanje je pokazalo da je anemija, prema definiciji Svetske Zdravstvene organizacije, bila prisutna kod 89,1% bolesnika. Analiza eritrocitnih indeksa (MCV, MCH i MCHC) pokazala je da je se radi o normocitno – normohromnoj, hipoproliferativnoj anemiji, što je i uobičajeno za anemiju u sklopu HBB (49). Uzrok anemije u ispitivanoj grupi bolesnika nije bio nedostatak gradivnih materija: gvožđa, vitamina B₁₂ ili folne kiseline. Analizom ukupnog broja leukocita, retikulocita i trombocita utvrdili smo da su se oni u vrlo visokom procentu kretali u okviru fizioloških vrednosti, što znači da je kod naših bolesnika sposobnost kosne srži za hematopoezu bila očuvana.

Kod svih ispitivanih bolesnika funkcija jetre je bila očuvana (Tabela 4.6.3.1). Kako je jetra glavno mesto sinteze hepcidina (106), znači da poremećaj u sintezi nije mogao uticati na serumski nivo hepcidina.

Elektroforeza serumskih proteina je ispitivana da bi se utvrdio nutritivni status bolesnika, sekretorna sposobnost jetre i prisustvo reaktanata akutne faze zapaljenja (tabela 4.6.4.1). Kako su vrednosti ukupnih proteina i albumina u serumu bile u okviru referentnih kod više od 90% bolesnika, možemo zaključiti da bolesnici nisu bili pothranjeni, da je sekretorna sposobnost jetre ispitivanih bolesnika bila očuvana, i da nije bilo značajnijeg gubitka proteina urinom, preko creva ili na neke druge načine. Pozitivni reaktanti akutne faze zapaljenja, α_1 , α_2 , β_2 globulini nisu bili povišeni u ispitivanoj grupi, i nije bilo ni sniženih vrednosti albumina kao negativni reaktanti akutne faze zapaljenja. Na osnovu ovih rezultata, bolesnici uključeni u naše ispitivanje, nisu bili u stanju akutne inflamacije.

Analizom poremećaja lipidskog statusa utvrdili smo da je naješći poremećaj hipoHDLholesterolemija, izolovana ili u kombinaciji sa hipertrigliceridemijom (grafikon 4.6.5.1). Slični rezultati sreću se i u literaturnim podacima (77).

Analizirali smo različite parametre metabolizma gvožđa (tabela 4.6.6.1). U ispitivanje su uključeni samo oni bolesnici, za koje smo, na osnovu uvida u medicinsku dokumentaciju, smatrali da su bez deficita gvožđa u organizmu i koji nisu supstituisani intravenskim prepartima

gvožđa najmanje dve nedelje pre uzorkovanja krvi. Vrednosti gvožđa u serumu bile su snižene kod oko 60% bolesnika. Popunjene telesne rezerve gvožđa, prema vrednostima feritina imalo je 81,8% bolesnika. U skladu sa tim nalazom su i niske vrednosti transportnog proteina za gvožđe, transferina, koje su bile snižene kod 98,7% bolesnika i TIBC, koji je bio snižen kod 90,9%. U ispitivanoj grupi, kod 81,8% bolesnika vrednosti TSAT su bile u okviru fizioloških, što znači da je gvožđe bilo dostupno za eritropoezu. Analizirajući vrednosti parametara metabolizma gvožđa, feritina i TSAT, kao i markera inflamacije, CRP, zaključili smo da je 84,4% ispitanika bilo bez deficita gvožđa. Apsolutni deficit gvožđa je bio prisutan kod 1,3% bolesnika, funkcionalni deficit kod 6,5%, a retikuloendotelijalna blokada kod 7,8% bolesnika (grafikon 4.6.6.1). Kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize značajno je razlikovati ove tri kategorije deficita gvožđa (167). Najvažnije pitanje je u kojoj od ovih grupa su bolesnici koji bi mogli imati koristi od terapije preparatima gvožđa. Adekvatan odgovor na terapiju gvožđem doveo bi do boljeg odgovora na terapiju ESA, uz izbegavanje rizika povezanih sa prekomernom supstitucijom gvožđa, što bi imalo veliki klinički i ekonomski značaj (168).

Svi bolesnici koji su uključeni u ispitivanje nisu imali prisutne kliničke znake akutne inflamacije. Analizirali smo neke od najznačajnijih parametara inflamacije da bismo proverili da li postoje laboratorijski znaci iste (tabela 4.6.7.1). SE je bila ubrzana kod gotovo svih ispitanika, ali je njen klinički značaj najmanji jer se smatra nespecifičnom laboratorijskom analizom na čije vrednosti, osim inflamacije, mogu uticati i brojni drugi faktori poput poremećenog sastava proteina plazme i anemije. Sa druge strane, fibrinogen je bio blago povišen kod 3,9% bolesnika. Prema vrednostima CRP, u stanju inflamacije je bilo 44,2% bolesnika, dok su vrednosti IL-6 bile povišene kod 18,2% bolesnika. U radovima drugih autora utvrđeno je da su parametri inflamacije kod bolesnika na HD povišeni u odnosu na populaciju zdravih (169, 170).

Učestalost anemije raste sa napredovanjem HBB, tako da je prisutna kod gotovo svih bolesnika u V stadijumu HBB (45). Medikamentozna terapija anemije u našoj grupi, u odnosu na vrednosti hemoglobina, bila je neophodna kod 88,3% bolesnika. U skladu sa preporukama (48), većina naših bolesnika lečena je medikamentozno kratkododeljućim ESA, dok su dugododeljući ESA bili primenjivani kod 20,65% bolesnika (grafikon 4.7.1). ESA su kod svih bolesnika primenjivani intravenskim putem.

Hepcidin u serumu može se odrediti pomoću mass spektrometrije i ELISA metodom. Mass spektrometrija se smatra preciznijom metodom, jer meri samo izoforme hepcidina od 25 aminokiselina (171). Vrednosti hepcidina u serumu dobijen ELISA metodom pokazuju dobru

korelaciju sa onima dobijenim mass spektrometrijom, ali na njih može uticati i različit stepen ukrštene reakcija hepcidina -25 sa svojom izoformom hepcidin -20. (172). Praktični značaj ove ukrštene reakcije je mali, jer biološku aktivnost i uticaj na metabolizam gvožđa ima samo hepcidin-25 (54). U skladu sa tehničkim mogućnostima, u sprovedenom ispitivanju hepcidin u serumu je određivan ELISA metodom.

Kod bolesnika na hroničnom programu hemodijalize se očekuju povišene vrednosti hepcidina u serumu u odnosu na zdravu populaciju zbog smanjenog izlučivanja hepcidina preko bubrega i povećane sinteze zbog inflamacije i velikih telesnih rezervi gvožđa (152). Srednja vrednost hepcidina u ispitivanoj grupi bolesnika lečenih hemodijalizom je bila 103,12 +/- 39,18 ng/ml, a kretala se u intervalu od 27 do 210 ng/ml. Vrednosti serumskog nivoa hepcidina u okviru referentnih granica, koje je odredio proizvođač kita koji smo koristili, zabeležene su kod 2,6% bolesnika. I u radovima drugih istraživača (150, 168, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178) nivo hepcidina u serumu kod bolesnika u terminalnom stadijumu HBB značajno je viši u odnosu na populaciju zdravih. Sumnju u validnost ovakvih rezultata istraživanja izneli su Valenti i sar. (179). Osnovne zamerke su mali broj ispitanika uključenih u istraživanje, slaba usklađenost bolesnika i zdrave kontrolne grupe po starosti, polu i parametrima metabolizma gvožđa. Doprinos u rešavanju ovog problema svakako su dali Galesloot i sar. (124) koji su sprovedeli veliko istraživanje na 1948 zdravih dobrovoljaca, te odredili referentne vrednosti serumskog nivoa hepcidina u zavisnosti od pola i starosti ispitanika.

Univarijantna analiza je pokazala da su na nivo hepcidina u serumu kod ispitivanih bolesnika u našoj studiji uticale vrednost gvožđa u serumu, feritin, transferin, TIBC, TSAT, IL-6, nedeljna doza ESA i ALT.

U ispitivanoj grupi bolesnika nisu utvrđene razlike u nivou hepcidina u odnosu na pol bolesnika (grafikon 4.8.1.1). U istraživanju van der Weerd su utvrdili da muškarci imaju značajno niže vrednosti hepcidina u serumu (164).

Svi ispitivani parametri metabolizma gvožđa u sprovedenom ispitivanju u univarijantnoj analizi su korelirali sa serumskim nivoom hepcidina (Tabela br. 4.8.3.1). Serumsko gvožđe, feritin i saturacija transferina pozitivno su korelirali sa nivoom hepcidina, što je pokazano i u ispitivanju Weissa i sar. (152). Nezavisnu vezu hepcidina i feritina utvrdili su i drugi autori (164, 168, 173, 174, 175, 177, 180, 181, 182) Transferin i TIBC su u našem istraživanju u univarijantnoj analizi pokazali negativnu korelaciju sa hepcidinom kao i kod Xu i sar (177).

Parametri metabolizma gvožđa koji su trenutno u upotrebi ne daju zadovoljavajući odgovor na pitanje koji od bolesnika bi imao koristi od dodatne nadoknade gvožđa intravenskim putem, jer ne zavise isključivo od gvožđa nego su pod uticajem i drugih faktora. Tako su pod uticajem inflamacije transferin, feritin, TSAT i procenat hipohromnih eritrocita, a pod uticajem eritropoetske aktivnosti je koncentracija solubilnih transferinskih receptora (168). Postavlja se pitanje da li bi hepcidin mogao poslužiti kao prediktor odgovora na intravenske preparate gvožđa. Tessitore i sar. su sprovedli ispitivanje na 56 bolesnika na hroničnom programu hemodijalize i pratili da li terapija preparatima gvožđa tokom 16 uzastopnih dijaliznih procedura utiče na vrednosti hepcidina u serumu (168). Na osnovu sprovedenog istraživanja zaključili su da hepcidin, kao ni tradicionalni parametri metabolizma gvožđa, ne može poslužiti kao prediktor odgovora na preparate gvožđa, što znatno umanjuje njegov klinički značaj. Slično istraživanje, na manjem broju bolesnika, sprovedli su Ford i sar. (183). Oni su zaključili da hepcidin ne može poslužiti kao parametar metabolizma gvožđa zbog velike intra-individualne promenljivosti u posmatranom šestonedeljnem periodu, što je najverovatnije posledica toga što hepcidin nije samo pod uticajem telesnih rezervi gvožđa nego i inflamacije u ispitivanoj grupi bolesnika. Po tome su hepcidin i feritin slični, te, po mišljenju Forda i sar. hepcidin nema prednosti u odnosu na feritin. Svakako da se definitivni zaključak ne može doneti na osnovu dve studije sprovedene na 56 odnosno 28 bolesnika, te da je potrebno uraditi ispitivanje na većoj i pažljivo izabranoj grupi bolesnika na hroničnom programu HD.

U univarijantnoj analizi naše studije dokazana je korelacija između IL-6 i serumskog nivoa hepcidina (tabela 4.8.4.1), kao i kod Samouilidou i sar. Slično istraživanju koje su sprovedli Kato i sar. (181) i Xu Y i sar. (177), ni kod nas nije dokazana statistički značajna korelacija sa CRP iako je u nekim ispitivanjima ona postojala (164, 173, 178). Korelacija između hepcidina i IL-6 nije potvrđena u istraživanju Ashby i sar. (150). Povezanost nivoa hepcidina i markera inflamacije verovatno bi bila snažnija da smo ispitivali ukupnu populaciju bolesnika na HD, a ne samo one bez kliničkih znakova inflamacije.

Eritropoetin stimuliše proliferaciju eritrocitnih perkurzora, koji luče različite ‘eritroidne faktore’, a koji dovode do smanjenog stvaranja hepcidina u jetri (121). Kakimoto-Shino i sar. su ispitivali uticaj ESA na nivo hepcidina u serumu, na Hb i različite parametre metabolizma gvožđa kod sedamdeset i jednog bolesnika (184). Zaključili su da ESA dovodi do značajnog pada vrednosti hepcidina, feritina i TSAT, kao i do značajnog porasta vrednosti Hb. Takasawa i sar. ispitivali su uticaj ESA na serumski nivo hepcidina, i pokazali da nivo hepcidina raste 6-9h nakon

administracije kratkodjelujućeg ESA, a da se na početni nivo vraća nakon 18h (185). Nakon administracije dugodjelujućeg pegilovanog epoetina, dolazi do porasta nivoa hepcidina posle 6-9 sati, na početni nivo vraća se posle 18h, a dodatno opada 5-7 dana kasnije. U našem ispitivanju hepcidin je meren najmanje 48h nakon primene ESA. U sprovedenom ispitivanju u univarijantnoj analizi postojala je pozitivna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i prosečne nedeljne doze ESA (Tabela 4.8.5.1). Na vrednosti hepcidina nisu uticali ERI, vrsta ESA i ukupna dužina primene ESA. U istraživanju Xu i sar. utvrđeno je da ne postoji korelacija između nivoa hepcidina i nedeljne doze ESA kao ni sa ERI (177). Suprotno tome, Ashby i sar. (150) su utvrdili postojanje negativne korelacije između hepcidina i nedeljne doze ESA i ERI. Nakon navedenog su ispitivali uticaj započinjanja terapije ESA na nivo hepcidina kod sedam bolesnika, i utvrdili da ESA značajno snižava nivo hepcidina, te da nivo ostaje na tom nižem nivou tokom 2-4 nedelje kontinuirane terapije. Pre nego što se zaključi da li ESA suprimira produkciju hepcidina potrebna su istaživanja na većem broju bolesnika.

U univarijantnoj analizi naše studije nije utvrđena korelacija između serumskog nivoa hepcidina i vrednosti leukocita i hemoglobina (Tabela 4.8.5.1), kao što su pokazali i XU i sar. (177). Suprotno tome, Ashby i sar. (150) su u svom ispitivanju na 94 stabilna bolesnika na HD utvrdili negativnu korelaciju između serumskog nivoa hepcidina i hemoglobina. U našem ispitivanju vrednosti retikulocita nisu korelirale sa nivoom hepcidina, kao i kod Tessitore i sar. (168), dok su Weiss i sar. (152) i van der Weerd i saradnici (164) pokazali da postoji negativna korelacija između retikulocita i serumskog nivoa hepcidina. Razlike u veličini uzoraka mogle bi objasniti razliku u dobijenim rezultatima.

Hepcidin je mali protein koji lako prolazi kroz glomerularnu bazalnu membranu i u fiziološkim uslovima se eliminiše preko bubrega (123). U ispitivanju Malyszko i sar. iz 2006. (175), hepcidin je značajno korelirao sa vrednostima uree i kreatinina kod bolesnika na hemodijalizi. U našem ispitivanju nije postojala korelacija između pokazatelja funkcije bubrega i serumskog nivoa hepcidina (Tabela 4.8.6.1), kao ni kod Xu i sar (177). Ni rezidualna bubrežna funkcija u našem istraživanju nije korelirala sa serumskim nivoom hepcidina. Slične rezultati su prikazani u studiji Peters i sar. (174), koji su utvrdili da JGF kod bolesnika u predijaliznim stadijumima HBB, kao i kod onih na HD ne korelira sa serumskim nivoom hepcidina. U istraživanjima Malyszko i sar. sprovedenim 2006 i 2009 (175, 180), Troutta i sar. (176) i van der Weerd i sar. (164), utvrđeno je postojanje negativne korelacije između rezidualne bubrežne funkcije i nivoa hepcidina u serumu. Hepcidin u plazmi vezan za alfa2-makroglobulin, ali postoji

mogućnost da se vezuje i za neki veći serumski protein, koji sprečava njegovo slobodno filtriranje kroz glomerularnu bazalnu membranu, čime bi se mogle objasniti razlike u dobijenim rezultatima.

Hepcidin se predominantno stvara u jetri, a u manjim količinama može stvarati i u bubrezima, mozgu i skeletnim mišićima (106). Zbog toga je očuvana sintetska funkcija jetre neophodna za normalnu produkciju hepcidina. U univarijantnoj analizi postojala je povezanost između serumskog nivoa hepcidina i vrednosti ALT, ali se ta povezanost u multivarijantnoj analizi nije potvrdila (tabela 4.8.8.1).

Xu i sar. nisu utvrdili korelaciju između nivoa hepcidina i albumina u serumu, kao ni sa ostalim serumskim proteinima (177). Takvi rezultati dobijeni su i u našem ispitivanju (tabela 4.8.10.1).

Malyszko i sar. su u multivarijantnoj analizi potvrdili korelaciju između triglicerida i serumskog nivoa hepcidina (180). Takve rezultate izneli su i Samouilidou i sar. (178). U našem ispitivanju, međutim, hepcidin nije značajno korelirano ni sa jednim parametrom lipidskog statusa (tabela 4.8.9.1). Moguće objašnjenje moglo bi biti da su kod naših bolesnika, vrednosti parametara lipidskog statusa znatno više nego kod Samouilidou i sar. (178), jer naši bolesnici u glavnom ne uzimaju preporučenu terapiju za regulaciju lipidskog statusa. Sprovedenim ispitivanjem nismo utvrdili postojanje korelacije između BMI i hepcidina. Utvrđivanje povezanosti serumskog nivoa hepcidina sa parametrima lipidskog statusa i markerima inflamacije mogla bi doprineti rasveljavanju uloge hepcidina u promociji ateroskleroze (186).

Hepcidin je mali molekul, molekulske mase od 2,8 kD, te se može očekivati da se lako eliminiše iz krvi hemodijalizom. Ranije sprovedena ispitivanja su pokazala da dijalizna procedura, bez obzira da li se radi o niskoprotlačnoj ili visokoprotlačnoj dijalizi, dovodi do značajnog snižavanja serumskog nivoa hepcidina (152, 173). Hepcidin se eliminiše konvektivim transportom ili adsorpcijom na dijaliznu membranu (152). Slabija eliminacija hepcidina u poređenju sa vitaminom B₁₂ koji ima sličnu molekulska masu, mogla i se objasniti *in vivo* vezivanjem hepcidina za neki veći protein plazme (173). Vrsta dijalizne procedure, koeficijent Kt/V, vaskularni pristup kao ni dužina lečenja hemodijalizom u našem ispitivanju nisu korelirali sa serumskim nivoom hepcidina (tabela 4.8.7.1). To je slično podacima koje su izneli Kato i sar. (181), Xu i sar. (177) i Zaritsky i sar (151), koji takođe nisu utvrdili korelaciju hepcidina sa koeficijentom Kt/V, a kao moguće objašnjenje za ovakve nalaze smatra se mnogo veća molekulska masa hepcidina u odnosu na ureu, čiji klirens reprezentuje Kt/V. Veliko interesovanje

za snižavanje vrednosti hepcidina u serumu hemodijalizom podstaknuto je očekivanjem da bi se na taj način moglo uticati na funkcionalni deficit gvožđa i RES blokada kod bolesnika sa uznapredovalom HBB. Međutim, Weiss i sar. (152), kao i Kuragano i sar. (182) su pokazali da serumski nivo hepcidina opada nakon hemodijalize, ali da nakon sat vremena posle procedure dostiže predijalizni nivo i taj nivo ostaje stabilan do sledeće hemodijalizne procedure.

U našoj studiji svi faktori koji su se pokazali značajnim za nivo hepcidina u univarijantnoj analizi su nakon toga testirani u multivarijantnoj analizi (tabela 4.8.11.1). Od svih poznatih regulatora ekspresije hepcidina, IL-6, eritropoetske aktivnosti i telesnih rezervi gvožđa, multivarijantna analiza izdvojila je feritin, reprezentiva količine deponovanog gvožđa, kao jedini nezavisni faktor koji utiče na serumski nivo hepcidina. Nezavisnu vezu hepcidina i feritina utvrdili su i drugi autori (168, 174, 175, 180, 182). Izostanak nezavisnog uticaja IL-6 na nivo hepcidina u ispitivanoj grupi, može biti posledica većeg značaja koji imaju parametri metabolizma gvožđa, ali i kriterijuma za uključivanje u ispitivanje, ili većeg uticaja nekih drugih inflamatornih citokina koji u ovom radu nisu ispitivani.

Anemija je česta komplikacija HBB, koja dovodi do smanjenja kvaliteta života i porasta kardiovaskularnih oboljenja, kognitivnih poremećaja, porasta broja hospitalizacija i mortaliteta (43). Medikamentozna korekcija anemije u HBB agensima za stimulaciju eritropoeze ima za cilj da se smanji prisustvo kardiovaskularnih i neuroloških komorbiditeta, da se popravi kvalitet života i da se izbegnu transfuzije krvi. U našem ispitivanju nivo Hb u krvi nije značajno korelirao sa serumskim nivoom hepcidina. Zbog toga smo želeli da ispitamo koji su to faktori koji značajno utiču na nivo Hb kod naših bolesnika (tabela 4.9.1). U univarijantnoj analizi utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija između Hb i leukocita, ukupnih proteina i albumina, a negativna korelacija između hemoglobina i feritina, indeksa rezistencije na eritropoetin i nedeljne doze ESA. Blizu statistički značajne povezanosti su i transferin, TIBC i hepcidin. Multivarijantna analiza je potvrdila pozitivnu povezanost leukocita i albumina sa Hb (tabela 4.9.2). Najznačajniji nezavisni činioc koji utiče na nivo Hb u ispitivanoj populaciji su albumini. U ovakvo selektovanoj grupi bolesnika, koji su supstituisani sa ESA i imaju adekvatne telesne rezerve gvožđa, prema dobijenim rezultatima najvažnije je da li su obezbeđene druge gradivne materije neophodne za produkciju hemoglobina, odnosno albumini.

Vrednost hemoglobina od 110g/l je ciljna vrednost u medikamentoznom lečenju anemije u HBB. Zbog toga smo uporedili dve grupe bolesnika: one kod kojih smo taj cilj ostvarili i one kod kojih nismo, i analizirali po čemu se razlikuju (tabela 4.10.1). Kod pedeset i dva bolesnika

(67,5%) vrednosti hemoglobina bile su niže od 110 g/l, a kod dvadeset i pet (33,5%) su bile iznad 110 g/l. Univarijantna analiza je pokazala da se ove dve grupe značajno razlikuju po dužini lečenja hemodijalizom, ukupnom broju leukocita, nivou ukupnih proteina i albumina u serumu. Logistička regresija je kao najznačajnije faktore izdvojila ukupan broj godina lečenja hemodijalizom i broj leukocita, dok su statističku značajnost izgubili ukupna vrednost proteina i albumina u serumu (Tabela 4.10.2). Ovakvi rezultati mogu se objasniti činjenicom da su bolesnici koji su duže na dijalizi obično klinički stabilniji, duže dobijaju ESA a krv za laboratorijske analize im se ređe uzorkuje. Veza između Hb i leukocita može se objasniti prisustvom receptora za eritropoetin na različitim ćelijama, uključujući i polimorfonuklearne granulocite (187) i limfocite (188). Ono što bi još moglo biti značajno je i činjenica da se ove dve grupe ispitanika ne razlikuju po količini ESA koju smo primenjivali. To bi moglo značiti da su bolesnici sa nižim vrednostima hemoglobina zapravo subdozirani, te da bismo možda imali bolje rezultate ukoliko bismo bili u mogućnosti da im dajemo adekvatne doze ESA.

U studiji smo proverili kakav je odgovor naših bolesnika na primenjenu medikamentoznu terapiju. Kao najvažniji faktori koji dovode do smanjenog odgovora na ESA navode se deficit gvožđa, stanje inflamacije vrsta dijalize i drugi faktori (189). Kato i sar. (181) su ispitivali postojanje razlike u serumskom nivou hepcidina između grupa bolesnika koji su imali zadovoljavajući i nedovoljan odgovor na terapiju ESA. Kao bolesnici koji imaju nezadovoljavajući odgovor na ESA smatrani su oni koji su ispunjavali sva tri kriterijuma: $Hb < 100$ g/l, $ferritin \geq 100$ μ g/l, a nedeljno su dobijali 9000 IU ESA. Utvrdili su da ne postoje razlike u serumskom nivou hepcidina između ove dve grupe i zaključili da hepcidin ima mali značaj u predikciji odgovora na ESA. Slično istraživanje nije bilo moguće sprovesti u našoj grupi, obzirom na ograničene mogućnosti Odeljenja za hemodijalizu da ni jedan od naših bolesnika ne dobija toliko velike nedeljne doze ESA. Zbog toga smo efikasnost terapije ESA procenjivali u odnosu na prosečne nedeljne doze ESA i ERI. Kako u matematičku formulu za izračunavanje ERI ulaze nedeljna doza ESA /kg TM i postignuta vrednost Hb, jasno je da je efikasnost ESA veća ukoliko je ERI manji, odnosno ukoliko su potrebne manje nedeljne doze ili je vredost Hb veća. U posmatranoj grupi, ERI pozitivno korelira sa nivoom paratiroidnog hormona, a negativno sa ukupnim brojem leukocita u krvi, hemoglobinom, BMI i granično sa starošću bolesnika (tabela 4.11.1). Multivarijantna analiza je utvrdila postojanje negativne korelacije između ERI i ukupnog broja leukocita kao najznačajnijeg faktora, ali postoji i negativna korelacija između ERI i BMI, kao i pozitivna korelacija sa PTH (tabela 4.11.2).

Povezanost između ERI i BMI može se objasniti matematičkom vezom, jer se u izračnavanju i jednog i drugog indeksa koristi telesna masa. Smatra se da visoke vrednosti parathormona utiču na smanjeno stvaranja eritropoetina, povećavaju fragilnost eritrocitne membrane i suprimiraju matične ćelije opredeljene za eritrocitnu lozu u kosnoj srži (55), čime bi se mogao objasniti slabiji odgovor na ESA kod ispitivanih bolesnika. U univariјantnoj analizi postoji pozitivna statistički značajna povezanost prosečne nedeljne doze ESA sa IL-6, hepcidinom, dužinom lečenja sa ESA i nivoom paratiroidnog hormona, a negativna statistički značajna poveznost sa starošću bolesnika, vaskularnim pristupom, ukupnim brojem leukocita i nivoom Hb (tabela 4.11.3). Multivariјantna analiza parametara koji utiču na nedeljnu dozu ESA je pokazala da u ispitivanoj grupi postoji negativna korelacija između nedeljne doze ESA i starosti bolesnika, prisustva CVK i broja leukocita u krvi, kao i pozitivna korelacija sa hepcidinom (tabela 4.11.4). Negativna korelacija sa starošću objašnjava se time što su stariji bolesnici često imali loše regulisanu hipertenziju, te nisu mogli dobiti terapiju ESA svaki put kada im je bila potrebna, ali i ograničenim količinama ESA te je prednost u lečenju sa ESA često bila data mlađim bolesnicima i kandidatima za transplantaciju bubrega. Pozitivna korelacija sa hepcidinom bi značila da je kod bolesnika sa visokim vrednostima hepcidina bilo neophodno primenjivati već doze ESA da bismo dobili zadovoljavajući klinički odgovor. U našem ispitivanju ESA nije suprimirala produkciju hepcidina, iako bi se to moglo očekivati (121). Studija preseka koju smo sprovedeli svakako nije dovoljna za donošenje definitivnih zaključaka. Sprovedenje studije praćenja na većem broju ispitanika dalo bi validnije rezultate.

Najvažniji markeri inflamacije kod bolesnika na hroničnom programu HD su CRP, IL-6 i prokalcitonin (82). U svakodnevnom radu, zbog svoje senzitivnosti i dostupnosti, CRP ima najveći praktični značaj. Iako su naši bolesnici bili selektovani tako da nisu imali prisutne kliničke znake akutne inflamacije, kod njih trideset i četiri (44,2%) bile su prisutne povišene vrednosti CRP te smo ih podelili u dve grupe: sa vrednostima $CRP \leq 5 \text{ mg/l}$ i $CRP > 5 \text{ mg/l}$. U univariјantnoj analizi između ispitivanih grupa, statistički značajna razlika postoji u vrednostima Kt/V, indeksu telesne mase, hemoglobinu, serumskom gvožđu, TSAT i svim parametrima inflamacije. Ne postoji statistički značajna razlika u nivou hepcidina između ove dve grupe ispitanika (tabela br. 4.12.1). Logistička regresija je potvrdila postojanje korelacije između vrednosti CRP i indeksa Kt/V, hemoglobina u krvi, i drugih markera inflamacije, sedimentacije eritrocita i interleukina-6 (Tabela br. 4.12.2). Kada su bolesnici u stanju inflamacije imaju značajno niže vrednosti hemoglobina. Iako se smatra da tome doprinosi visok nivo hepcidina,

koji smanjuje dostupnost gvožđa bakterijama, tako što ga blokira u telesnim rezervama i smanjuje apsorpciju preko gastrointestinalnog trakta (49), u našem ispitivanju to nije potvrđeno. Od većeg značaja je bila adekvatnost dijalize, odnosno klirens srednjih molekula i inflamatornih citokina, čije nakupljanje u krvi deluje inhibitorno na kosnu srž (47, 190). Inflamacija se smatra jednim od stimulansa za sintezu hepcidina. Zbog toga smo, u grupi bolesnika sa vrednostim CRP>5mg/l ispitali šta utiče na nivo hepcidina (tabela 4.12.3). Kuragano i sar. (182) su u grupi bolesnika sa povišenim vrednostima CRP utvrdili korelaciju jednakog intenziteta između nivoa hepcidina i vrednosti feritina i IL-6. U našem ispitivanju u univarijantnoj analizi dobijena je statistički značajna pozitivna korelacija hepcidina sa dužinom i vrstom dijalize, IL-6, feritinom, TSAT, nedeljnom dozom ESA i dužinom lečenja sa ESA. Heparin negativno korelira sa transferinom. Multivarijantna analiza izdvojila je feritin kao jedini nezavisni faktor koji utiče na nivo hepcidina (tabela 4.12.4.). To znači da su i u grupi bolesnika koji su u inflamaciji, telesne rezerve gvožđa od presudnog uticaja na sintezu hepcidina.

Prema KDIGO smernicama iz 2012. godine (48), indikovana je primena intravenskih preparata gvožđa kod pacijenata kod kojih je vrednost feritina manja od 500 µg/l. Vrednosti feritina veća od 500 µg/l, smatra se da su telesne rezerve popunjene, te je dalja primena intravenskih preparata kontraindikovana. Da bismo utvrdili po čemu se razlikuju, bolesnike smo, u odnosu na vrednosti feritina, podelili u dve grupe: one sa većim i one sa manjim vrednostima od 500 µg/l. Univarijantna analiza dobijenih rezultata pokazala je da se ove dve grupe razlikuju po vrednostima IL-6, svim ispitanim parametrima metabolizma gvožđa, vrednostima hepcidina i ukupnoj dužini aktivnog lečenja HBB hemodijalizom (Tabela 4.13.1). Logistička regresija je pokazala da je hepcidin jedini nezavisni faktor po kome se razlikuju grupa sa jasno popunjenim rezervama gvožđa i ona kod kojih se još može pokušati lečenje intravenskim preparatom gvožđa (tabela 4.13.2). Na nivo hepcidina u serumu utiče nekoliko grupa faktora. Smatra se da kada su popunjene telesne rezerve gvožđa, nivo hepcidina raste da bi se sprečila dalja intestinalna apsorpcija gvožđa. I u stanju inflamacije raste nivo hepcidina, da bi gvožđe bilo sačuvano u svojim skladištima i nedostupno bakterijama. Sa druge strane, anemija i pojačana eritropoeza snižavaju nivo hepcidina, da bi gvožđe moglo biti oslobođeno iz svojih skladišta i dostupno za eritropoezu (128). U našoj grupi od 37 bolesnika sa vrednostima feritina većim od 500 µg/l, ispitali smo faktore koji bi mogli uticati na nivo hepcidina (tabela 4.13.3). U univarijantnoj analizi statističku značajnost pokazali su vrednost feritina i ERI. Oba faktora su zadržala značajnost i u multivarijantnoj analizi, ali je ERI bio statistički značajniji (Tabela 4.13.4). Više

vrednosti hepcidina bile su povezane sa višim vrednostima ERI, odnosno, bolesnici su morali dobiti veće doze ESA da bi postigli ciljne vrednosti hemoglobina. Najveći klinički značaj svakako ima postignuta vrednost hemoglobina. Zato smo ispitali šta utiče na vrednost hemoglobina u grupi bolesnika koji nisu imali deficit gvožđa (tabela 4.13.5). U univarijantnoj analizi izdvojili su se feritin, albumini, ERI, nedeljna doza ESA i hepcidin, ali su u multivarijantnoj analizi statističku značajnost zadržali nedeljna doza ESA i vrednost albumina u serumu kao najznačajniji faktor (tabela 4.13.6). Iz dobijenih rezultata može se zaključiti, da je u grupi sa popunjenim rezervama gvožđa najvažnije obezbediti adekvatan nutritivni status i dovoljne količine ESA. Tada hepcidin, iako ograničava količinu gvožđa dostupnog za eritropoezu, ne korelira sa produkcijom hemoglobina u ovoj grupi bolesnika.

6. ZAKLJUČCI

1. Postoji pozitivna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i IL-6. Nije utvrđeno postojanje korelacije između serumskog nivoa hepcidina i ostalih ispitivanih parametara inflamacije (SE, fibrinogen i CRP).
2. Postoji pozitivna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i gvožđa u serumu, feritina i TSAT. Utvrđena je negativna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i transferina i TIBC.
3. Postoji pozitivna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i nedeljne doze ESA. Heparidin nije korelirao sa ERI, sa ukupnom dužinom lečenja sa ESA, niti sa vrstom ESA. Postoji negativna korelacija između serumskog nivoa hepcidina i odgovora na terapiju sa ESA.
4. Hemoglobin u krvi ispitivanih bolesnika nezavisno pozitivno korelira sa vrednostima leukocita i albumina u serumu.
5. Vrednosti ERI u ispitivanoj grupi pozitivno koreliraju sa vrednostima PTH i negativno sa vrednostima leukocita i BMI.
6. U grupi bolesnika koji su u stanju inflamacije, jedino feritin nezavisno korelira sa nivoom hepcidina u serumu.
7. U grupi bolesnika koji imaju popunjene telesne rezerve gvožđa, najintenzivnija je pozitivna korelacija između nivoa hepcidina i ERI.
8. U grupi bolesnika koji imaju popunjene rezerve gvožđa na nivo hemoglobina najjače utiču nedeljna doza ESA i količina albumina u serumu.

LITERATURA:

1. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am. J Kidney Dis* 2002; 39 (Suppl 1): S1-S266.
2. Đukanović Lj, Oštrić V. Hronična insuficijencija bubrega. in *Bolesti bubrega*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva Beograd 1999;13:483-542.
3. Schlondorff DO. Overview of factors contributing to the pathophysiology of progressive renal disease. *Kidney International* 2008; 74:860-866.
4. Ruggenenti P, Cravedi P, Remuzzi G. Mechanisms and Treatment of CKD. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23:1917-1928.
5. Renal Data System. *USRDS: 2006 annual data report: atlas of end stage renal disease in the United States*. Bethesda, MD: National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease, 2006.
6. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet* 2012; 379: 165-80.
7. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse: Hronična bolest bubrega. *Klinički vodič 9/12*; Beograd 2013.
<http://www.zdravlje.gov.rs/downloads/2013/Novembar/VodicZaPrevencijuDijagnostikovanjeiLecenjeHronicneBolestiBubrega.pdf>
8. Kovesdy CP. Significance of hypo- and hypernatremia in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 891-898.
9. Alcázar Arroyo R. Electrolyte and acid-base balance disorders in advanced chronic kidney disease. *Nefrologia* 2008; 28(Suppl 3): 87-93.
10. Choi HY, Ha SK. Potassium Balances in Maintenance Hemodialysis. *Electrolyte Blood Press* 2013; 11: 9-16.
11. Musso CG. Potassium metabolism in patients with chronic kidney disease (CKD). Part I: Patients not on dialysis (stages 3-4). *International Urology and Nephrology* 2004; 36: 456-468.
12. Musso CG. Potassium metabolism in patients with chronic kidney disease (CKD). Part II: Patients on dialysis (stage 5). *International Urology and Nephrology* 2004; 36: 469-472.

Literatura

13. Staude H, Jeske S, Schmitz K, Warncke G, Fisher DC. Cardiovascular Risk and Mineral Bone Disorder in Patients with Chronic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res* 2013; 37: 68-83.
14. Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Bone and mineral disorders in pre-dialysis CKD. *Int Urol Nephrol* 2008; 40: 427-440.
15. Kestenbaum B, Belozeroff V. Mineral metabolism disturbances in patients with chronic kidney disease. *European Journal of Clinical Investigation* 2007; 37: 607-622.
16. 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(Suppl 117): S10-S21.
17. Martin KJ, Gonzáles EA. Prevention and Control of Phosphate Retention/Hyperphosphatemia in CKD-MBT: What is Normal, When to Start, and How to Treat? *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 440-446.
18. Almeras C, Argiles A. The General Picture of Uremia. *Seminars in Dialysis* 2009; 22(4): 329-33.
19. de Francisco ALM, Rodríguez M. Magnesium –its role in CKD. *Nefrologia* 2013; 33(3): 389-99.
20. Remppis A, Ritz E. Cardiac Problems in the Dialysis Patient: Beyond Coronary Disease. *Seminars in Dialysis* 2008; 21(4): 319-325.
21. Parfrey PS. Cardiac disease in dialysis patients: diagnosis, burden of disease, prognosis, risk factors and management. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(5): 58-68.
22. Rigatto C, Parfrey PS. Arrhythmias in Hemodialysis Patients. In: *Handbook of Dialysis Therapy*. Hissenson AR, Fine RN (eds). Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008: 426-44.
23. Middleton RJ, Parfrey PS, Foley RN. Left Ventricular Hypertrophy in the Renal Patient. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(5): 1079-84.
24. London GM. Cardiovascular Disease in Chronic Renal Failure: Pathophysiologic Aspects. *Semin Dial* 2003; 16(2): 85-94.
25. Amann K, Tyralla K. Cardiovascular changes in chronic renal failure – pathogenesis and therapy. *Clin Nephrol* 2002; 58(suppl 1): 62-72.
26. Meier P, Vogt P, Blanc E. Ventricular Arrhythmias and Sudden Cardiac Death in End-Stage Renal Disease Patients on Chronic Hemodialysis. *Nephron* 2001; 87(3): 199-214.

Literatura

27. Locatelli F, Bommer J, London GM, Martin-Malo A, Wanner C, Yacoob M, et al. Cardiovascular disease determinants in chronic renal failure: clinical approach and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(3): 459-68.
28. Goldsmith DJA, Covic A. Coronary artery disease in uremia: Etiology diagnosis and therapy. *Kidney int* 2001; 60(6): 2059-78.
29. Berl T, Henrich W. Kidney-Heart Interactions: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. *CJASN* 2006; 1(1): 8-18.
30. Herzog CA, Litrell K, Arko C. Clinical Characteristics of Dialysis Patients with Acute Myocardial Infraction in the United States. *Circulation* 2007; 116(13):1465-72.
31. Sood MM, Pauly RP, Rigatto C, Komenda P. Left ventricular dysfunction in the haemodialysis population. *NDT plus* 2008; 4:199-205.
32. Wood JE, Mahnensmith RL. Pericarditis Associated with Renal Failure: Evaluation and Management. *Semin Dial* 2001; 14(1):61-6.
33. Nori US, Manoharan A, Thornby JI, Yee J, Parasuraman R, Ramanathan V. Mortality risk factors in chronic haemodialysis patients with infective endocarditis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(8): 2184-90.
34. Nucifora G, Badano LP, Viale P, Gianfagna P, Allocca G, Montanaro D, et al. Infective endocarditis in chronic haemodialysis patients: an increasing clinical challenge. *Eur Heart J* 2007; 28(19): 2307-12.
35. Buemi M, Coppolino G, Bolignano D, Sturiale A, Campo S, Buemi A, et al. Arrhythmias and Hemodialysis: Role of Potassium and New Diagnostic Tools. *Ren Fail* 2009; 31(1): 75-80.
36. Herzog CA, Mangrum M, Passman R. Sudden Cardiac Death in Dialysis and Patients. *Semin Dial* 2008; 21(4): 300-7.
37. Karnik JA, Young BS, Lew NL, Herget M, Dubinsky C, Lazarus JM, et al. Cardiac arrest and sudden death in dialysis units. *Kidney Int* 2001; 60(1): 350-357.
38. Locatelli, F, Covic A, Chazot C, Leunissen K, Luño J, Jaqoob M, et al. Hypertension and cardiovascular risk assessment in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(5): 1058-68.
39. Agarwal R. Systolic Hypertension in Hemodialysis Patients. *Semin Dial* 2003; 16(3): 208-13.

Literatura

40. Zoccali C, Benedetto FA, Tripepi G, Mallamaci F. Cardiac Consequences of Hypertension in Hemodialysis Patients. *Semin Dial* 2004; 17(4): 299-303.
41. Pierson DJ. Respiratory Consideration in the Patient With Renal Failure. *Respiratory Care* 2006; 51(4): 412-22.
42. Turcios NL. Pulmonary Complications of Renal Disorders. *Paediatric Respiratory Reviews* 2012; 13: 44-9.
43. Hussein MM, Mooij JM, Roujouleh H. Tuberculosis and chronic renal disease. *Semin Dial* 2003; 16(1): 38-44.
44. WHO. Database of anemia. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005.
45. KDOQI National Kidney Foundation: KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 47 (Suppl 3): S11-S145.
46. Tsagalis G. Renal anemia: a nephrologist's view. *Hippokratia* 2011; 15(suppl 1):39-43.
47. Lankhorst CE, Wish JB. Anemia in renal disease: Diagnosis and management. *Blood Reviews* 2010; 24:39-47.
48. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2012; 2:279-335.
49. Babitt JL, Lin HY. Mechanism of Anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23:1631-1634.
50. Tanaka T, Nangaku M. Recent advances and clinical application of erythropoietin and erythropoiesis-stimulating agents. *Experimental Cell Research* 2012; 318:1068–1073.
51. Cullis JO. Diagnosis and management of anaemia of chronic disease: current status. *British Journal of Haematology* 2011; 154:289-300.
52. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of Chronic Disease; *New England Journal of Medicine*, 2005, 352; 10:1011-23.
53. Kemna E.H.J.M., Tjalsma H, Willems H.L, Swinkels DW: Heparin: from discovery to differential diagnosis; *Haematologica* 2008; 93(1):90-97.
54. Nemeth E, Ganz T. The Role of Heparin in Iron Metabolism. *Acta Haematologica* 2009; 122: 78-86.
55. Limrick C., McNichols-Thomas C. Anaemia and Mineral Bone Disorder in Chronic Kidney Disease: A Review of the Current Literature and Implications for Clinical Nursing Practice. *Journal of Renal Care* 2009; 35: 94–100.

Literatura

56. Vlahakos DV, Marathias KP, Madias NE. The role of the renin-angiotensin system in the regulation of erythropoiesis. *AmJ Kidney Dis* 2010; 56(3):558-65.
57. Shen XZ, Ong FS, Bernstein EA, Janjulia T, Blackwell WLB, Shah KH et al. Non-traditional roles of angiotensin converting enzyme. *Hypertension* 2012; 59(4): 763–768.
58. Malyszko J, Oberbauer R, Watschinger B. Anemia and erythrocytosis in patients after kidney transplantation. *Transplant Int* 2012; 25:1013-23.
59. Chonchol M. Neutrophil Dysfunction and Infection Risk in End-Stage Renal Disease. *Seminars in Dialysis* 2006; 19(4): 291-296.
60. Lutz J, Menke J, Sollinger D, Schinzel H, Thürmel K. Haemostasis in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(1): 29-40.
61. Kaw D, Malhotra D. Platelet Dysfunction and End-Stage Renal Disease. *Seminars in Dialysis* 2006; 19(4): 317-322.
62. de la Rosa García E, Mondragón Padilla A, Aranda Romo S, Bustamante Ramírez MA. Oral mucosa symptoms, signs and lesions, in end stage renal disease and non-end stage renal disease diabetic patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11(6): 467-73.
63. Kang JY. The Gastrointestinal Tract in Uremia. *Digestive Disease and Science* 1993; 38(2): 257-68.
64. Toke AB. GI bleeding risk in patients undergoing dialysis. *Gastrointestinal endoscopy* 2010; 71(1): 50-52.
65. Bang CS, Lee YS, Lee YH, Sung H, Park HJ, Kim HS, Kim JB et al. Characteristics of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage in patients with chronic kidney disease. *World J Gastroenterol* 2013; 19(43): 7719-25.
66. Wasse H, Gillen DL, Ball AM, Kestenbaum BR, Seliger SL, Sherrard D, Stehman-Breen CO. Risk factors for upper gastrointestinal bleeding among end-stage renal disease patients. *Kidney Int* 2003; 64:1455-61.
67. Kosaraju K, Singh Faujdar S, Singh A, Prabhu R. Hepatitis Viruses in Hemodialysis Patients: An Added Insult to Injury? *Hepat Res Treat* 2013; 2013: 860514.
68. Ros S, Carrero JJ. Endocrine alterations and cardiovascular risk in CKD: Is there a link? *Nefrologia* 2013; 33(2): 181-87.
69. Niemczyk S, Niemczyk L, Romejko-Ciepielewska K. Basic endocrinological disorders in chronic renal failure. *Polish Journal of Endocrinology* 2012; 63(3): 250-57.

Literatura

70. de Boer IH. Vitamin D and glucose metabolism in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hyperten* 2008; 17(6): 566-72.
71. Vaziri ND, Norris K. Lipid Disorders and Their Relevance to Outcomes in Chronic Kidney Disease. *Blood Purification* 2011; 31:189-96.
72. Krishnan AV, Pussell BA, Kiernan MC. Neuromuscular Disease in the Dialysis Patient: An Update for the Nephrologist. *Seminars in Dialysis* 2009; 22(3): 267-78.
73. Seifler JL, Samuels MA. Uremic encephalopathy and other brain disorders associated with renal failure. *Semin Neurol* 2011; 31(2):139-43.
74. Madero M, Gul A, Sarnak MJ. Cognitive Function in Chronic Kidney Disease. *Seminars in Dialysis* 2008; 21(1): 29-37.
75. Rubinger D, Backenroth R, Sapoznikov D. Sympathetic Nervous System Function and Dysfunction in Chronic Hemodialysis Patients. *Seminars in Dialysis* 2013; 26(3): 333-43
76. Kuypers DRJ. Skin problems in chronic kidney disease. *Nature Clinical Practice Nephrology* 2009; 5(3): 157-70.
77. Vaziri ND, Pahl MV, Crum A, Norris K. Effect of uremia on structure and function of immune system. *J Ren Nutr* 2012; 22(1): 149-56.
78. Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2002; 17 (Suppl 8): 16-24.
79. Vacher-Coponat H, Brunet C, Lyonnet L, Bonnet E, Lounodou A, Sampol J et al. Natural killer cell alteration correlate with loss of renal function and dialysis duration in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1406–1414.
80. Grindt M, Sester M, Sester U, Kaul H, Kohler H. Molecular aspects of T- and B-cell function in uremia. *Kidney International* 2001; 59 (Suppl 78): 206-211.
81. Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated? *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (Suppl 8): 33-38.
82. Jofré R, Rodriguez-Benitez P, López-Gómez JM, Pérez-García R. Inflammatory Syndrome in Patients on Hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (Suppl 3): 274-80.
83. Schena FP. Management of patients with chronic kidney disease. *Intern Emerg Med* 2011; 6 (Suppl 1): S77-S83.
84. Turner JM, Bauer C, Abramowitz MK, Melamed ML, Hostter TH. Treatment of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2012; 81:351-362.

85. Cravedi P, Ruggenenti P, Remuzzi G. Intensified inhibition of renin-angiotensin system: a way to improve renal protection? *Curr Hypertens Rep* 2009; 11:118–24.
86. Maschio G, Alberti D, Janin G, Locatelli F, Mann JF, Motolese M, Ponticelli C, Ritz E, Zucchelli P. Effect of the angiotensin- converting-enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency. The Angiotensin-Converting- Enzyme Inhibition in Progressive Renal Insufficiency Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334:939–94.
87. Navaneethan SD, Nigwekar SU, Sehgal AR, Strippoli GF. Aldosterone antagonists for preventing the progression of chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:542–51.
88. Gashti CN, Bakris GL. The role of calcium antagonists in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004; 13:155–161.
89. Bakris GL, Hart P, Ritz E. Beta blockers in the management of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006; 70:1905–1913.
90. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Diabetes and CKD: 2012 Update. *Am J Kidney Dis* 2012; 60(5):850-886.
91. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Verdalles U, Ruiz-Caro C, Ampuero J, Rincoñ A, Arroyo D, Luño J. Effect of allopurinol in chronic kidney disease progression and cardiovascular risk. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5:1388–1393.
92. Hsu CY, Vittinghoff E, Lin F, Shlipak MG. The incidence of end-stage renal disease is increasing faster than the prevalence of chronic renal insufficiency. *Ann Intern Med* 2004; 141:95–101.
93. Levin A, Hemmelgarn B, Culeton B, Tobe S, McFarlane P, Ruzicka M et al. Guidelines for the management of chronic kidney disease. *Canadian Medical Association Journal* 2008; 179(11): 1154–1162.
94. Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D. Novel drugs and intervention strategies for the treatment of chronic kidney disease. *Br J Clin Pharmacol* 2013; 76(4): 536-550.
95. Hörl WH. Differentiating Factors Between Erythropoiesis-Stimulating Agents: An Update to Selection for Anaemia of Chronic Kidney Disease. *Drugs* 2013; 73:117-130.
96. Hrvačević R. Fizički principi hemodijalize. In Hrvačević R. *Savremene metode dijalize*. Grafolik Beograd 2012; 1:19-34.
97. Himmelfarb J, Ikizler TA. Hemodialysis. *N Engl J Med* 2010; 363 (19):1833-45.

Literatura

98. Hrvačević R. Hemofiltracija. In Hrvačević R. Savremene metode dijalize. Grafolik Beograd 2012; 9:239-293.
99. Hrvačević R. Hemodijafiltracija. In Hrvačević R. Savremene metode dijalize. Grafolik Beograd 2012; 7:129-214.
100. KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3: 1-150.
101. Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4(5):1205-13.
102. Gokal R, Mallick NP. Peritoneal dialysis. *Lancet* 1999; 353:823-28.
103. Dukanović Lj, Oštrić V. Lečenje za zamenu funkcije bubrega. In *Bolesti bubrega. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva Beograd* 1999; 543-634.
104. Nešić V. Peritoneumska dijaliza nasuprot hemodijalizi: pristup izbora i stvaranja najboljeg individualnog programa lečenja terminalne bubrežne insuficijencije. In *Peritoneumska dijaliza - klinički problemi. Medicinski fakultet Beograd* 2003; 31-41.
105. Danovitch GM. Options for Patients with End-Stage Renal Disease. In *Handbook of Kidney Transplantation. Fifth edition. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins* 2010; 1-18.
106. Malyszko J, Mysliwiec M: Hecpidin in anemia and inflammation in chronic kidney disease; *Kidney Blood Press Res* 2007; 30: 15-30.
107. Oliveira F, Rocha S, Fernandes R. Iron Metabolism: From Health to Disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2014; 00:1-9.
108. Camaschella C. Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *Hematology Am Soc Hematol Educat Program* 2013; 2013: 1-8.
109. Camaschella C, Strati R. Recent advances in iron metabolism and related disorders. *Intern Emerg Med* 2010; 5: 393-400.
110. Mastrogiannaki M, Matak P, Peyssonnaux C. The gut in iron homeostasis: role of HIF-2 under normal and pathological conditions. *Blood* 2013; 122 (6): 885-892.
111. Andrews NC. Molecular control of iron metabolism. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2005. 18(2):159-169.
112. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell* 2010; 142 (1):24-38.

113. Srai SK, Chung B, Marks J, Pourvali K, Solonky N, Rapisarda C et al. Erythropoietin regulates intestinal iron absorption in a rat model of chronic renal failure. *Kidney int.* 2010; 78(7): 660-667.
114. Anderson J.G., Frazer D.M, McLaren G.D.: Iron absorption and metabolism; *Current Opinion in Gastroenterology* 2009; 25: 129-135.
115. Ruchala P, Nemeth E. The pathophysiology and pharmacology of hepcidin. *Trends in Pharmacological Sciences* 2014; 35 (3):155-161.
116. Zumbrennen-Bullough K, Babitt JL. The iron cycle in CKD: from genetics and experimental models to CKD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(2):263-373.
117. Krause A, Nietz S, Magert H.J., Schultz A, Forssmann W.G., Schultz-Knappe P. et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bounded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000; 480: 147-50.
118. Park CH, Valore EV, Waring JA, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-7810.
119. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S, Gehrke SD, Rost D, Janetzko A et al. The iron regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidneys. *J Endocrinol* 2005; 184: 361-370.
120. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; 277: 37597-37609.
121. Fung E, Nemeth E. Manipulation of the hepcidin pathway for therapeutic purposes. *Haematologica* 2013; 98(11):1667-1676.
122. Peslova G, Petrak J, Kuzelova K, Hrdy I, Halada P, Kuchel PW et al. Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha₂-macroglobulin in blood. *Blood* 2009; 113: 6225-6236.
123. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 2012; 1823(9):1434-1443.
124. Galesloot TE, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ, Klaver SM, Kroot JJ, van Tienoven D et al. Serum hepcidin: reference range and biochemical correlates in the general population.
125. Ganz T. Hepcidin- a regulator of intestinal absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2005, Vol 18; No 2, pp 171-182.

Literatura

126. Zhang DL, Hughes RM, Olivierre-Wilson H, Ghosh MC, Rouault TA. A ferroportin transcript that lacks an iron-responsive element enables duodenal anderythroid precursor cells to evade translational repression. *Cell Metabol* 2009; 9:461-473.
127. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughan MB, Donovan A, Ward DM et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306:2090-2093.
128. Young B, Zaritsky J. Hepcidin for clinicians; *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:1384-1387.
129. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, Xia Y, Sidis Y, Samad TA et al. Bone morphogenic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat. Genet.* 2006; 38:531-539.
130. Ross S, Hill CS. How the Smasds regulate transcription. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2008; 40(3): 383-408.
131. Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, Aydinok Y, Pearson HA, Hartman KR et al. Mutation in *TMPRSS6* cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nat. Genet.* 2008; 40(5):569-571.
132. Du X, She E, Gelbart T, Truksa J, Lee P, Xia Y et al. The serine protease *TMPRSS6* is required to sense iron deficiency. *Science* 2008; 320:1088-1092.
133. Lee P. Role of Matriptase-2 (*TMPRSS6*) in Iron Metabolism. *Acta Haematol* 2009; 122: 87-96.
134. Enns CA, Ahmed R, Zhang AS. Neogenin interacts with matriptase-2 to facilitate hemojuvelin cleavage. *J Biol Chem* 2012; 287(42): 35104-17.
135. Fleming RE. Hepcidin Activation During Inflammation: Make it STAT. *Gastroenterology* 2007; 132(1):447-449.
136. Chung B, Verdier F, Matak P, Deschemin JC, Mayeux P, Vaulont S. Oncostatin M is a potent inducer of hepcidin, the iron regulatory hormone. *FASEB J.* 2010; 26(6):2093-103.
137. Armitage AE, Eddowes LA, Gileadi U, Cole S, Spottiswoode N, Selvakumar TA et al. Hepcidin regulation by innate immune and infectious stimuli. *Blood* 2011; 118: 4129-4139.
138. Besson-Fournier C, Latour C, Kautz L, Bertrand J, Ganz T, Roth MP et al. Induction of activin B by inflammatory stimuli up-regulates expression of the iron-regulatory peptide hepcidin through *Smad1/5/8* signaling. *Blood* 2012; 120: 431-439.

Literatura

139. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest*. 2004; 113(9): 1271–1276.
140. Lee P, Peng H, Gelbant T, Wang L, Bentler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Nat Acad U S A* 2005; 102:1906-1910.
141. Greenberg AS, Obin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr* 2006; 83 (suppl):461S-5S.
142. Chung B, Matak P, McKie AT, Sharp P. Leptin increases the exprssion of the regulatory hormon hepcidin in HuH7 human hepatoma cells. *J Nutr* 2007; 137(11):2366-70.
143. Babitt JL, Lin HY. Molecular Mechanism of Hepcidin Regulaion: Implications for the Anemia of CKD. *Am J Kidney Dis* 2010;55(4):726-741.
144. Liu Q, Davidoff O, Niss K, Haase VH. Hypoxia-inducible factor regulates hepcidin via erythropoietin-induced erythropoiesis. *J Clin Invest*. 2012;122(12):4635–4644.
145. Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Reviews* 2013; 27:41–53.
146. Pak M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006;108:3730–3735.
147. Pinto JP, Ribeiro S, Pontes H, Thowfeequ S, Tosh D, Carvalho F. Brief Report Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP α . *Blood* 2008; 111:5727-5733.
148. Silvestri L, Pagani A, Camaschella C. Furin mediated release of soluble hemojuvelin: a new link between hypoxia and iron homeostasis. *Blood* 2008;111(2):924-931.
149. Ganz T. Hepcidin- a regulator of intestinal absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematolgy* 2005, Vol 18; No 2, pp 171-182.
150. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009;75(9):976-981.
151. Zaritsky J, Young B, Wang HJ, Westerman M, Olbina G, Nemeth E et al. Hepcidin- a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1051-1056.

152. Weiss G, Theurl I, Eder S, Koppelstaetter C, Kurz K, Sonnweber T et al. Serum hepcidin concentration in chronic hemodialysis patients: associations and effects of dialysis, iron and erythropoietin therapy. *Eur J Clin Invest* 2009; 39(10):883-890.
153. Kato A, Tsuji T, Luo J, Sakao Y, Yasuda H, Hishida A. Association of Prohepcidin and Heparin-25 with Erythropoietin Response and Ferritin in Hemodialysis Patients.
154. Hohaus S, Massini G, Giachelia M, Vannata B, Bozzoli V, Cuccaro A et al. Anemia in Hodgkin's lymphoma: the role of interleukin-6 and hepcidin. *J Clin. Oncol.* 2010; 28:2538-2543.
155. Sharma S, Nemeth E, Chen YH, Goodnough J, Huston A, Roodman GD et al. Involvement of hepcidin in the anemia of multiple myeloma. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14:3262-3267.
156. Guo S, Casu C, Gardenghi S, Booten S, Aghajan M, Peralta R, et al. Reducing TMPRSS6 ameliorates hemochromatosis and β -thalassemia in mice. *J. Clin. Invest.* 2013; 123(4):1531-1541.
157. Poli M, Girelli D, Camprostrini N, Maccarinelli F, Finazzi D, Luscieti S, et al. Heparin: a potent inhibitor of hepcidin expression in vitro and in vivo. *Blood* 2011; 117(3):997-1004.
158. Elliot J, Mishler D, Agarwal R. Hyporesponsiveness to erythropoietin: causes and management. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2009; 16:94-100.
159. Bernhardt WM, Wiesener MS, Scigalla P, Chou J, Schmieder RE, Günzler V et al. Inhibition of prolyl hydroxylases increases erythropoietin production in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(12): 2151-6.
160. Sun CC, Vaja V, Babitt JL, Lin HY. Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *Am. J. Hematol.* 2012; 87:392-400.
161. Gambino R, Desvarieux E, Orth M, Matan H, Ackattupathil T, Lijol E et al. The relation between chemically measured total iron-binding capacity concentrations and immunologically measured transferrin concentrations in human serum. *Clinical Chemistry* 1997; 43(12):2408-2412.
162. Jelkmann W. Physiology and Pharmacology of Erythropoietin. *Transfus Med Hemother* 2013;40:302-309.
163. Grupa autora. Godišnji izveštaj o lečenju dijalizama i transplantacijom bubrega u Srbiji, 2009. Udruženje nefrologa Srbije, Beograd 2011; 6:17-23.

164. Van der Weerd NC, Grooteman MP, Bots ML, van der Dorpel MA, den Hoedt CH, Mazairac AH et al. Heparin-25 In Chronic Hemodialysis Patients Is Related To Residual Kidney Function And Not To Treatment With Erythropoiesis Stimulating Agents. *PLoS One* 2012; 7(7):e39783.
165. Cohen EP, Krzenski JM. C-reactive protein and dialysis access. *Kidney Int* 2009; 76:1025-1026.
166. Dukkupati R, Molnar MZ, Park J, Jing J, Kovesdy CP, Kajani R, Kalantar-Zadeh K. Association of Vascular Access Type with Inflammatory Marker Levels in Maintenance Hemodialysis Patients. *Seminars in Dialysis* 2014; 27(4):415-423.
167. Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Antoniadi G, Kartsios C, Stefanidis I. The Role of Heparin in Iron Homeostasis and Anemia in Hemodialysis Patients. *Seminars in Dialysis* 2009; 22(1):70-77.
168. Tessitore N, Girelli D, Campostrini N, Bedogna V, Solero GP, Castagna A et al. Heparin is not useful as biomarker for iron needs in haemodialysis patients on maintenance erythropoiesis –stimulating agents. *Nephrol Dial Transpl* 2010; 25:3996-4002.
169. Đurđević Mirković T. Prognostički značaj C-reaktivnog proteina i drugih reaktanata akutne inflamatorne faze u različitim stadijumima hronične bubrežne insuficijencije. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet Novi Sad 2004;
170. Rysz J, Banach M, Cialkowska-Rysz A, Stolarek R, Barylski M, Drozd J et al. Blood Serum Levels of IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α and IL-1 β in Patients on Maintenance Hemodialysis. *Cell Mol Immunol* 2006; 3(2):151-154.
171. Kroot J, Laarakkers C, Geuts-Moespot AJ, Grebenchtchikov N, Pickiers P, van Ede AE et al. Immunochemical and mass spectrometry-based serum heparin assays for iron metabolism disorders. *Clin Chem* 2010; 56:1570-1579.
172. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum heparin. *Blood* 2008; 112:4292-4297.
173. Zaritsky J, Young B, Gales B, Wang HJ, Rastogi A, Westerman M et al, Reduction of Serum Heparin by Hemodialysis in Pediatric and Adult Patients. *Clin J A Soc Nephrol* 2010; 5:1010-1014.
174. Peters HP, Laarakkers CM, Swinkles DW, Wetzels JF. Serum heparin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transpl* 2010; 25:848-853.

175. Malyszko J, Malyszko JS, Pawlak K, Mysliwiec M. Heparin, Iron Status and Renal Function in Chronic Renal Failure, Kidney Transplantation and Hemodialysis. *Am. J. Hematol* 2006; 81:832-837.
176. Troutt JS, Butterfield AM, Konrad RJ. Heparin -25 Concentrations Are Markedly Increased in Patients With Chronic Kidney Disease and Are Inversely Correlated With Estimated Glomerular Filtration Rates. *J Clin Lab Anal* 2013; 27(6):504-510.
177. Xu Y, Ding XQ, Zou JZ, Liu ZH, Jiang SH, Chen YM. Serum Heparin in Hemodialysis Patients: Associations with Iron Status and Microinflammation. *J Int Med Res* 2011; 39(5):1961-1967.
178. Samouilidou E, Pantelias k, Petras D, Tsirpanlis G, Bakirtzi J, Chatzivasileiou G et al. Serum Heparin Levels Are Associated With Serum Triglycerides And Interleukin-6 Concentrations In Patients With End-Stage Renal Disease. *Ther Apher Dial* 2014; 18(3):279-283.
179. Valenti L, Messa p, Pelusi S, Campostrini N, Girelli D. Heparin levels in chronic hemodialysis patients: a critical evaluation. *Clin Chem Lab Med* 2014; 52(5):613-619.
180. Malyszko J, Malyszko JS. Type of Renal Replacement Therapy and Residual Renal Function May Affect Proheparin and Heparin. *Renal Failure* 2009; 31:876-883.
181. Kato A, Tsuji T, Luo J, Sakao Y, Yasuda H, Hishida A. Association of Proheparin and Heparin-25 with Erythropoietin Response and Ferritin in Hemodialysis Patients.
182. Kuragano T, Shimonaka Y, Kida A, Furuta M, Nanami M, Otaki Y et al. Determinants of Heparin in Patients on Maintenance Hemodialysis: Role of Inflammation. *Am J Nephrol* 2010; 31:534-540.
183. Ford BA, Eby CS, Scott MG, Coyne DW. Intra-individual variability in serum heparin precludes its use as a marker of iron status in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2010; 78:769-773.
184. Kakimoto-Shino M, Toya Y, Kuji T, Fujikawa T, Umemura S. Changes in Heparin and Reticulocyte Hemoglobin Equivalent Levels in Response to Continuous Erythropoietin Receptor Activator Administration in Hemodialysis Patients: A Randomized Study. *Ther Apher Dial* 2014; Jan 24. doi: 10.1111/1744-9987. (Epub ahead of print)
185. Takasawa K, Tomosugi N, Takaeda C, Maeda T, Ueda N. Regulation of Heparin-25 by Short- and Long-Acting rhEPO May Be Dependent on Ferritin and Predict the Response to rhEPO in Hemodialysis Patients. *Nephron Extra* 2014; 4:55-63.

Literatura

186. Van der Weerd NC, Grooteman MP, Bots ML, van der Dorpel MA, den Hoedt CH, Mazairac AH et al. Heparin-25 is related to cardiovascular events in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(12): 3062-3071.
187. Sela S, Shurtz-Swirski R, Sharon R, Manaster J, Chezar J, Shkolnik G et al. The polymorphonuclear leukocyte- a new target for erythropoietin. *Nephron* 2001; 88(3):205-210.
188. Lisowska KA, Bryl E, Witkowski JM. Erythropoietin receptor is detectable on peripheral blood lymphocytes and its expression increases in activated T lymphocytes. *Haematologica*. 2011; 96(3):e12-3.
189. López-Gómez JM, Portolés JM, Aljma P. Factors that condition the response to erythropoietin in patients on hemodialysis and their relation to mortality. *Kidney int.* 2008; 74(suppl 111):S75-S81.
190. Bowry S, Gatti E. Impact of Hemodialysis Therapy on Anemia on Chronic Kidney Disease: The Potential Mechanisms. *Blood Purif* 2011; 32:210-219.

SADRŽAJ

1. UVOD	2
1.1. HRONIČNA BUBREŽNA BOLEST	2
1.1.1 Definicija i klasifikacija	2
1.1.2 Uzroci	3
1.1.3 Klinička slika	6
1.1.3.1 Poremećaj metabolizma vode i elektrolita	6
1.1.3.2 Kardiovaskularni sistem	10
1.1.3.3 Plućne komplikacije	13
1.1.3.4 Hematološki poremećaji	14
1.1.3.5 Gastrointestinalni poremećaji	21
1.1.3.6 Endokrini i metabolički poremećaji	23
1.1.3.7 Neuromuskularni poremećaji	26
1.1.3.8 Dermatološke promene	27
1.1.3.9 Imunološki poremećaji	29
1.1.4 Lečenje	31
1.1.4.1 Bolesnici u stadimima 1 i 2 hronične bubrežne bolesti	31
1.1.4.2 Bolesnici u stadijumima 3-5 hronične bubrežne bolesti	33
1.2. METABOLIZAM GVOŽĐA	40
1.2.1 Intestinalna apsorpcija gvožđa	43
1.2.2. Recikliranje gvožđa u makrofagima	44
1.2.3. Hepatocitni transport gvožđa	45
1.3. HEPCIDIN	47
1.3.1 Istorijat	47
1.3.2 Sinteza, struktura i eliminacija	47
1.3.3 Mehanizam dejstva	49
1.3.4 Regulacija	50
1.3.4.1 Uticaj gvožđa na ekspresiju hepcidina	50
1.3.4.2 Uticaj inflamacije na ekspresiju hepcidina	53
1.3.4.3 Regulacija ekspresije hepcidina u stanju hipoksije	54
1.3.5. Uloga hepcidina u bolesnim stanjima	56
1.3.5.1 Poremećaji zbog deficita ili rezistencije na hepcidin	56
1.3.5.1.1 Hereditarna hemohromatoza	56
1.3.5.1.2 Anemije sa prevelikim nakupljanjem gvožđa	57
1.3.5.2 Poremećaji zbog visokih vrednosti hepcidina ili deficita ferroportina	57
1.3.5.2.1 Anemija sa smanjenim sadržajem i refrakternošću na gvožđe	57
1.3.5.2.2 Anemija u inflamaciji	58
1.3.5.2.3 Anemija u hroničnoj bolesti bubrega	58
1.3.5.2.4 Anemija kod malignih bolesti	58
1.3.5.2.5 Ferroportinska bolest	58
1.3.6 Terapijske mogućnosti u lečenju poremećaja hepcidina	59
1.3.6.1 Agonisti hepcidina	59
1.3.6.2. Antagonisti hepcidina	60
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA	62

Sadržaj

3. MATERIJAL I METODE ISPITIVANJA	63
4. REZULTATI ISPITIVANJA	67
4.1 Polna struktura	67
4.2 Starosna struktura	67
4.3 Osnovna bolest	68
4.4 Parametri povezani sa dijalizom	69
4.5 Klinička slika	73
4.6 Rezultati biohemijskih analiza	77
4.6.1 Parametri hematopoeze	77
4.6.2 Pokazatelji funkcije bubrega	78
4.6.3 Pokazatelji funkcije jetre	78
4.6.4 Elektroforeza serumskih proteina	79
4.6.5 Lipidski status	80
4.6.6 Pokazatelji metabolizma gvožđa	81
4.6.7 Pokazatelji inflamacije	82
4.7 Medikamentozna stimulacija eritropoeze	83
4.8 Hepcidin	85
4.8.1 Određivanje nivoa hepcidina kod bolesnika lečenih hroničnim programom hemodijalize	85
4.8.2 Hepcidin i uzrok hronične bubrežne bolesti	85
4.8.3 Korelacija između hepcidina i parametara metabolizma gvožđa	87
4.8.4 Korelacija između hepcidina i parametara inflamacije	88
4.8.5 Korelacija između hepcidina i pokazatelja hematopoeze	89
4.8.6 Korelacija između hepcidina i parametara bubrežne funkcije	89
4.8.7 Korelacija između hepcidina i parametara povezanih sa dijalizom	90
4.8.8 Korelacija između hepcidina i parametara funkcije jetre	90
4.8.9 Korelacija između hepcidina i lipidskog statusa	91
4.8.10 Korelacija između hepcidina i serumskih proteina	92
4.8.11 Korelacija između hepcidina i ispitivanih parametara u multivarijantnoj analizi	92
4.9 Hemoglobin	93
4.10 Hemoglobin veći ili manji od 110g/l	96
4.11 Efikasnost terapije agensom za stimulaciju eritropoeze	99
4.12 C-reaktivni protein	105
4.13 Feritin	110
5. DISKUSIJA	116
6. ZAKLJUČCI	131
7. LITERATURA	132
8. SADRŽAJ	147
9. SPISAK SKRAĆENICA	149

SPISAK SKRAĆENICA

ACE inhibitori	Inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima
ACTH	Adrenokortikotropni hormon
ADP	Adenozindifosfat
AT2R	Blokatori angiotenzin 2 receptora
ATP	Adenozintrifosfat
AVF	Arterio-venska fistula
BFU-E	Rane opredeljene matične ćelije za eritrocitnu lozu
BMI	Indeks telesne mase
BMP	Koštani morfogeni protein
cAMP	Ciklični adenozinmonofosfat
CERA	Kontinuirani aktivator eritopoetinskog receptora
CFU-E	Poznih opredeljenih matičnih ćelija za eritrocitnu lozu
CO₂	Ugljen-dioksid
CRP	C reaktivni protein
CUA	Kalcifikujuća uremijska arteriolopatija
CVK	Centralnivenski kateter za hemodijalizu
Dcyt B	Duodenalni citohrom B
DM	Šećerna bolest
DMT1	Divalentni metal jon transporter 1
DNA	Dezoksiribonukleinska kiselina
DPP IV	Inhibitori dipeptidil peptidaze IV
EKG	Elektrokardiogram
EPO	Eritropoetin
EPO-R	Receptor eritropoetina
ERI	Indeks rezistencije na eritropoetin
ESA	Agens koji stimuliše eritropoezu
FGF-23	Fibroblasni faktora rasta -23
FPN	Ferportin
ft3	Slobodni trijod-tironin
ft4	Slobodni tiroksin
GDF 15	Faktor rasta i diferencijacije 15
GH	Hormon rasta
GLP-1	Peptid sličan glukagonu -1
GN	Glomerulonefritis
Hb	Hemoglobin
HbA_{1c}	Hemoglobin A1c
HBB	Hronična bubrežna bolest
HCP 1	Transportni protein za hem 1
HD	Hemodijaliza
HD HF	Visokoprotlačna hemodijaliza
HD LF	Niskoprotlačna hemodijaliza
HDF	Hemodijafiltracija
HDL	Lipoprotein velike gustine
HF	Hemofiltracija
HFE	Protein humane hemohromatoze

Spisak skraćenica

HIF	Hipoksijom indukovani faktor
HIV	Virus humane imunodeficijencije
HJV	Hemojuvelin
HO-1	Hem-oksigenaza 1
IDL	Lipoproteina srednje gustine
IL-1	Interleukin 1
IL-1α	Interleukin 1 α
IL-1β	Interleukin 1 β
IL-22	Interleukin 22
IL-6	Interleukin 6
IL-6 R	Receptor Interleukina 6
IL-8	Interleukin 8
INF-β	Interferon- β
IRE	Elementi koji reaguju na gvožđe
IRP	Proteini koji regulišu gvožđe
JAK	Janus kinaza
JGF	Jačina glomerulske filtracije
LDL	Lipoprotein male gustine
LH	Luteinizirajući hormon
LMWH	Niskomolekularni heparin
LPS	Lipopolisaharid
MCH	Srednja vrednost hemoglobina u jednom eritrocitu
MCHC	Srednja vrednost koncentracije hemoglobina u eritrocitu
MCP-1	Monocitni hemotaktični protein 1
MCV	Srednji volumen eritrocita
MHC	Glavni histokompatibilni kompleks
miRNA	Mikro Ribonukleinska kiselina
NO	Azotni oksid
NS	Nefroangioskleroza
NSAIL	Nesteroidni antiinflamatorni lekovi
O₂	Kiseonik
PAI-1	Inhibitor plazminogen-aktivatora -1
PCT	Prokalcitonin
PD	Peritoneumska dijaliza
PGI₂	Prostaciklin I ₂
PTH	Parathormon
sHJV	Solubilni hemojuvelin
T3	Trijod-tironin
T4	Tiroksin
TfR1	Receptor za transferin 1
TfR2	Receptor za transferin 2
TGF- β	Trasformišući faktor rasta β
TIBC	Ukupni kapacitet za vezivanje gvožđa
TM	Telesna masa
TMPRSS6	Transmembranska serinska proteaza matriptaza – 2
TNF-α	Tumorski faktor nekroze α
TSAT	Saturacija transferina

Spisak skraćenica

TSH	Tireo-stimulišući hormon
TV	Telesna visina
TWSG 1	Izuvijani gastrulacioni protein 1
Tx	Transplantacija
VLDL	Lipoprotein vrlo male gustine
vWF	von Willebrand-ov faktor

