



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Др Светлана Антић

ПРОЦЕНА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА КОД БОЛЕСНИКА
КОЈИ СЕ ЛЕЧЕ РЕДОВНОМ ХЕМОДИЈАЛИЗОМ

Докторска дисертација

Ментор: др сци. мед. Дејан Петровић, редовни професор

Крагујевац, 2020. године

ИДЕТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I Аутор</i>
Име и презиме: Светлана Антић
Датум и место рођења: 27.02.1976год, Ниш
Садашње запослење: лекар субспецијалиста -нефролог у Клиници за нефрологију ВМА
<i>II Докторска дисертација</i>
Наслов: Процена оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом
Број страница: 118
Број слика: 37 табела, 6 шема
Број библиографских података: 15
Установа и место где је рад израђен: Центар за нефрологију и дијализу КЦ Крагујевац
Научна област (УДК): Медицина (експериментална и клиничка медицина)
Ментор: проф. Др.сци.мед. Дејан Петровић
<i>III Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 07.06.2019г.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације:
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: Др сци.мед.Ђоко Максић, редовни професор, председник комисије Др сци.мед.Владимир Живковић, ванредни професор, члан Др сци. Невена Јеремић, доцент,члан
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације: Др сци. мед. Ђоко Максић, редовни професор, председник комисије; Др сци. мед Владимир Живковић, ванредни професор, члан; Др сци. Исидора Милисављевић, доцент, члан.

Датум одбране дисертације:

САЖЕТАК

Увод: Кардиоваскуларне болести су водећи узрок смрти болесника који се лече редовном хемодијализом. Оксидациони стрес је нетрадиционални фактор ризика за развој кардиоваскуларних болести у овој популацији болесника. Главни узроци развоја оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом су: биокомпатибилност дијализне мембране, присуство ендотоксина у раствору за хемодијализу и смањена активност антиоксидационих ензима. У главне клиничке последице оксидационог стреса спадају развој и убрзање процеса атеросклерозе, развој анемије и резистенција на дејство еритропоетина, малнутриција и амилоидоза повезана са хемодијализом.

Циљ рада: процена утицаја дијализне мембране и модалитета дијализе на развој оксидационог стреса, процена утицаја микроинфламације и малнутриције на развој оксидационог стреса, као и процена утицаја оксидационог стреса на развој атеросклерозе и резистенције на дејство еритропоетина.

Метод: У раду је испитано 125 болесника који се лече редовном хемодијализом уз поштовање Хелсиншке декларације о медицинским истраживањима и Добре клиничке праксе. Груписање болесника је учињено на основу клиничких параметара у складу са циљевима истраживања.

Резултати: Болесници који се лече редовном on-line хемодијафилтрацијом са „high-flux“ мембраном која је обложена витамином Е имају статистички значајно мању концентрацију реактивних супстанција везаних за тиобарбитурну киселину (TBARS). Између дебљине интима-медија каротидних артерија и концентрације TBARS-a у серуму постоји статистички значајна позитивна повезаност, док између концентрације SOD у еритроцитима и дебљине интима-медија каротидних артерија високо статистички значајна негативна повезаност. Болесници са резистенцијом на дејство дугоделујућег еритропоетина имају високо статистички значајно мању концентрацију преалбумина и витамина D у серуму, као и статистички значајно већу концентрацију CRP-a, супероксидног анјона и водоник пероксида у серуму. Микроинфламација је независан фактор ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина.

Закључак: Мембране за хемодијализу обложене витамином Е смањују концентрацију параметара липидне пероксидације у серуму, као што су: малондиалдехид (MDA), реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину (TBARS) и оксидовани LDL холестерол (oxLDL). Испитивања показују да ове мембране смањују и концентрацију

параметара оксидационог оштећења нуклеинских киселина, као што је 8-OHdG, као и концентрацију параметара микроинфламације (CRP, интерлеукин-6). Ове мембране обезбеђују добру контролу функције леукоцита, испољавају антиоксидационо и антиинфламаторно дејство. „High-flux“ хемодијализа и хемодијафилтрација са полисулфонском мембраном и мембраном обоженом витамином Е смањује атеросклерозу, амилоидозу повезану са хемодијализом, индекс резистенције на дејство еритропоетина и поправља лечење анемије у популацији болесника који се лече редовном хемодијализом.

Кључне речи: Хемодијалфилтрација, оксидациони стрес, дијализна мембрана

ABSTRACT

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading cause of death for patients treated with regular hemodialysis. Oxidative stress is a non-traditional risk factor for the development of cardiovascular disease in this population of patients. Main causes of the development of oxidative stress in patients treated with regular hemodialysis are dialysis membrane biocompatibility, the presence of endotoxin in hemodialysis solution and decreased activity of antioxidant enzymes. The main clinical consequences of oxidative stress include the development and acceleration of the process of arteriosclerosis, the development of anemia and resistance to erythropoietin malnutrition and amyloidosis connected with hemodialysis.

Objective: The main objectives of the examination are: dialysis, membrane, impact, assessment and dialysis modality on the development of oxidative stress, microinflammation and malnutrition impact assessment on the development of oxidative stress, as well as assessment of the effect of oxidative stress on the development of arteriosclerosis and resistance to erythropoietin.

Method: The study examined 125 patients treated with regular hemodialysis respecting the Declaration of Helsinki on Medical Research and Good Clinical Practice. The grouping of patients was done on the basis of clinical parameters in accordance with the objectives of the research.

Results: Patients treated with regular on-line hemodiafiltration with “high-flux” coated with vitamin E have statistically significantly lower concentration of reactive substances related to thiobarbituric acid (TBARS). Between the thickness of the intima-media of the carotid arteries and the concentration of TBARS in the serum, there is a statistically significant positive

connection, while between concentration of SOD in erythrocyte and carotid artery thickness of intima-media, there is highly significant negative connection. Patients with resistance to long-acting erythropoietin have statistically significantly lower concentration of prealbumin and vitamin D in the serum, as well as statistically significantly higher concentration of CRP, superoxide anion and hydrogen peroxide in the serum. Microinflammation is an independent risk factor for the development of erythropoietin resistance.

Conclusion: Membranes for hemodialysis coated with vitamin E reduce serum peroxidation lipid concentration parameters, such as malondialdehyde (MDA), reactive substances related to thiobarbituric acid (TBARS) and oxidized LDL cholesterol (oxLDL). Studies show that these membranes reduce both the concentration of oxidative damage parameters of nucleic acids such as 8-OHdG, as well as the concentration of microinflammation parameters (CRP, interleukin-6). These membranes provide good control of leukocyte function, manifest antioxidant and anti-inflammatory effects. High -flux hemodialysis and hemodiafiltration with polysulfone membrane and vitamin E coated membrane reduces atherosclerosis, hemodialysis-related amyloidosis, erythropoietin resistance index, and improves the treatment of anemia in the population of patients treated with regular hemodialysis.

Keywords: hemodiafiltration, dialysis membrane, oxidative stress.

ЗАХВАЛНИЦА

Искрену захвалност упућујем свом ментору, проф. Дејану Петровићу, на идеји и помоћи око рада, његове реализације, као и несебичној подршци у процесу стварања рада.

Неизмерну захвалност дугујем мојој дивној сестри Ивани, која је увек уз мене као велика и несебична подршка, а чије постојање улепшава свет и даје снагу

Хвала мојим дивним сестрићима Вуку и Мии на техничкој подршци приликом израде овог рада.

Хвала мојим предивним родитељима, Зорици и Момчилу, што су свој живот подредили својој деци и подржали ме да истрајем на овом путу.

Хвала мом дивном супругу Андрији, на најлепшим тренуцима живота, на неизмерној љубави, стрпљењу и разумевању.

Овај рад посвећујем својој дивној деци, вечитој инспирацији, **Александру и Зорици**, који су моја животна снага и истрајност.

САДРЖАЈ

1. УВОД	10
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	10
2.1. Хронична болест бубрега.....	10
2.1.1 Прогресија хроничне болести бубрега	11
2.1.2.Лечење хроничне болести бубрега	12
2. 2. Хемодијализа	12
2.2.1 Основни принципи	12
2.2.2. Мембране за хемодијализу	13
2.2.3. Адекватност хемодијализе	14
2.2.4. Ултрачист раствор за хемодијализу	16
2.3. Хемодијафилтрација	17
2.3.1.Основни принципи	17
2.3.2.Оптимизација конвективног волумена	19
2.4. Уремијски токсини.....	21
2.4.1. Класификација уремијских токсина	21
2.4.2.Мембране за хемодијализу и уремијски токсини	23
2.4.3. Клиничке компликације уремијских токсина	25
2.5. Оксидациони стрес.....	25
2.5.1. Оксидациони стрес: патофизиолошки механизми	25
2.5.2. Оксидациони стрес индукован хемодијализом	26
2.5.3. Клиничке последице оксидационог стреса	28
2.5.4. Параметри оксидационог стреса	30
2.5.5.Лечење оксидационог стреса код болесника на хемодијализи	30

2.6. Резистенција на дејство еритропоетина	32
2.6.1. Резистенција на дејство еритропоетина: дефиниција	32
2.6.2. Фактори ризика за развој резистенције	33
2.6.3. Утицај модалитета дијализе на резистенцију на дејство еритропоетина	38
2.7. β 2-микроглобулин амилоидоза	38
2.7.1. Патогенеза амилоидозе повезане с хемодијализом.....	39
2.7.2. Клиничка слика	40
2.7.3. Лечење	40
2.8. Атеросклероза	40
3. ЦИЉ	42
4. БОЛЕСНИЦИ И МЕТОДЕ	43
4.1.. Лабораторијска испитивања	44
4.2. Ултрасонографија – Колор доплер	45
4.3. Статистичка анализа	46
5. РЕЗУЛТАТИ РАДА	47
6. ДИСКУСИЈА	85
7. ЗАКЉУЧЦИ	93
8. ЛИТЕРАТУРА	96
9. ДОДАТАК	105

Докторска дисертација

1. УВОД

Болести бубрега, представљају здравствени проблем великих размера. Дефинише се као стање неповратног оштећења ткива бубрега, уз постепени губитак свих његових функција: метаболичких, екскреторних и ендокриних. Хронична болест бубрега је по свом току прогредирајућа, а опадањем функције бубрега настају бројне компликације. Најчешће компликације, спадају у групу кардиоваскуларних болести [1, 2]. Последњи стадијум хроничне болести бубрега повезан је с повећаним кардиоваскуларним морбидитетом и морталитетом, уз смањен квалитет живота болесника [1, 2].

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Хронична болест бубрега

Хронична болест бубрега дефинише се као значајно оштећење његове грађе и/или функције, а која траје најмање три месеца. Показатељи оштећења бубрега су микроалбуминурија (30–300 mg / током целог дана), протеинурија (≥ 300 mg / 24 h), позитиван седимент урина (цилиндри), као и промене у грађи бубрега верификоване ултразвучним прегледом. Поремећај функције бубрега представља ЈГФ < 60 [1, 2]. Разликујемо пет стадијума хроничне болести бубрега. Стадијум 1 хроничне болести бубрега дефинише се као оштећење бубрега с нормалном или повећаном јачином гломерулске филтрације (ЈГФ ≥ 90 ml/min/1.73m²). У стадијуму 2 (оштећење бубрега с благо смањеном ЈГФ), јачина гломерулске филтрације износи 60–89 ml/min/1.73m², а вредности јачине гломерулске филтрације 30–59 ml/min/1.73m² указују на стадијум 3 хроничне болести бубрега (оштећење бубрега са умерено смањеном ЈГФ). Ако погледамо препоруке KDIGO (енгл. Kidney Disease Improving Global Outcomes), стадијум 3 хроничне болести бубрега дели се у две категорије: 3а (ЈГФ = 45–50 ml/min/1.73m²) и стадијум 3б (ЈГФ = 30–44 ml/min/1.73m²). Стадијум 3а означава се још

и као оштећење бубрега с благо до умерено смањеном ЈГФ, док се стадијум 3б дефинише као оштећење бубрега са умерено до тешко смањеном ЈГФ [1, 2]. Јачина гломерулске филтрације до $15 \text{ ml/min/1.73m}^2$ указује на четврти стадијум хроничне болести бубрега, а вредности јачине гломерулске филтрације мање од $15 \text{ ml/min/1.73m}^2$ указују на њен завршни стадијум [1, 2].

2.1.1. Прогресија хроничне болести бубрега

Болести бубрега који су хроничног тока карактерише губитак функције бубрега, уз присутне компликације као што су: анемија, секундарни хиперпаратиреоидизам и кардиоваскуларне болести. Фактора ризика за опадање јачине гломерулске филтрације: протеинурија, хиперлипидемија, хипертензија, микроинфламација, оксидациони стрес и пре свега, примарне болести бубрега. Тај брзи напредак се пре свега дефинише као умањење ЈГФ $\geq 5 \text{ ml/min/1.73m}^2$ годишње [1, 2].

Највећу преваленцу у односу на друга обољења чини: хипертрофија леве коморе, кардиомиопатија и коронарна артеријска болест. Познати фактори ризика који доводе до настанка кардиоваскуларних болести код болесника који имају хроничну болест бубрега деле се на традиционалне и нетрадиционалне. Традиционални фактори ризика јесу: старост, пол, дијабетес мелитус, хипертензија, хиперлипидемија, гојазност и смањена физичка активност. Нетрадиционални фактори ризика који су у директној вези са смањењем функције бубрега јесу: анемија, хиперхомоцистеинемија, микроинфламација, недостатак витамина D, секундарни хиперпаратиреоидизам и оксидациони стрес [1, 2].

2.1.2. Лечење хроничне болести бубрега

Оптимална контрола фактора ризика је најважнија када говоримо о примарној превенцији и представља основну стратегију код болесника с повећаним ризиком за развој хроничне болести бубрега. Болесници код којих је дијагностикована хронична болест бубрега имају секундарну превенцију, а њен крајњи задатак је да заустави развој и минимализује компликације хроничне болести бубрега. У свему томе најзначајнија је оптимална контрола крвног притиска, протеинурије (блокада RAAS-а) и метаболичких параметара (глукоза, мокраћна киселина, метаболичка ацидоза, дислипидемија) [1, 2].

Код болесника с четвртим стадијумом хроничне болести бубрега (JGF 15–29 $ml/min/1.73m^2$), у складу с медицинским индикацијама, врши се припрема болесника за лечење методама за замену функције бубрега. У последњем стадијуму хроничне болести бубрега почињемо са лечењем применом дијализе, а поштујући принципе индивидуализације, као и оптимизације [1, 2].

2.2. Хемодијализа

Хемодијализа је метода лечења за замену функције бубрега. Том методом се помоћу мембране која је селективна, елиминишу уремијски токсини и у исто време се из раствора за хемодијализу прихватају супстанце, уз кориговање електролитског састава [3, 4]. Појединачна хемодијализа траје 4 до 5 сати, са тенденцијом репетиције од најчешће три пута, током седам дана. Током хемодијализе из крви пацијента уклоне се уремијски токсини у одговарајућој количини. Болесник је на тај начин сачуван, у интердијализном раздобљу, од електролитских поремећаја, наредна два--три дана [3, 4].

2.2.1. Основни принципи

Два основна принципа хемодијализе су дифузија и ултрафилтрација. Процес дифузије представља кретање супстанце (честица) током хемодијализе. Волумен дифузије ослања се на разлике у концентрацији, потребног времена за обнављање крви у дијализатору, површине, као и пропустљивости саме дијализне мембране [3, 4]. Вода која се транспортује, пролази путем ултрафилтрације (конвекције), углавном и то од крвног до дијализног простора. Процесом ултрафилтрације врши се транспорт кроз дијализну мембрану и водом „ношене” течности.

Јачина ултрафилтрације, пропустљивост мембране за назначену супстанцу и концентрација те супстанције у крви, у директној је вези са волуменом транспорта. У функцији средњег трансмембранског притиска је њена јачина, односно волумен ултрафилтрације и конвективног транспорта супстанца. Конвективни транспорт омогућава уклањање уремијских токсина средње молекулске масе, као што је β_2 -микроглобулин [3, 4].

2.2.2. Мембране за хемодијализу

Дијализна мембрана има значајну улогу у процесу хемодијализе. Деле се на: природне (деривати целулозе) и вештачке (синтетске). Мембране за хемодијализу базиране на целулози деле се у две групе: мембране с немодификованом целулозом (Cuprophan[®]) и мембране с модификованом целулозом (Hemophan[®]) [5, 6]. Карактеристика мембрана с немодификованом целулозом јесте добар клиренс уремијских токсина мале молекулске масе (не уклањају уремијске токсине средње молекулске масе) и већа адекватност хемодијализе у односу на друге мембране [5, 6]. Главни недостаци мембрана изграђених од немодификоване целулозе јесу: виши степен активације неутрофила и система комплемента него код мембрана од модификоване целулозе и синтетских мембрана (присутан мањи степен биокомпатибилности). Смањена биокомпатибилност мембрана од немодификоване целулозе повезана је са слободним хидроксил-групама, које узрокују активацију алтернативног пута система комплемента, активацију неутрофила и моноцита и повећану секрецију проинфламаторних цитокина. Активирани ћелије склоне су апоптози, а то за последицу има настанак леукопеније, која је често доказана код болесника који се лече редовном хемодијализом с целулозним мембранама. Приликом додира крви болесника с мембранама за хемодијализу од немодификоване целулозе, долази до активације неутрофила. Активирани неутрофили секретују бројне проинфламаторне супстанције, као што су: неутрофилна елстаза (neutrophil elastase), мијелопероксидаза (myeloperoxidase), катепсин (cathepsin), лактоферин (lactoferrin), хемокини (CCL2, CCL3) и цитокини (IL-1, IL-6, IL-12, TGF β , TNF α).

Повећано ослобађање и повећана концентрација неутрофилне елстазе у серуму повезани су са микроинфламацијом, резистенцијом на дејство еритропоетина и неповољним исходом болесника који се лече редовном хемодијализом [5, 6]. Мембране с модификованом целулозом настају хемијским маскирањем хидроксилних група с ацетатним групама, терцијарним амином и бензил групама. У мембране с модификованом целулозом спадају: cellulose acetate (CA), cellulose diacetate (CDA) и

cellulose triacetate (СТА) [5, 6]. Мембране изграђене од модификоване целулозе имају мањи степен активације система комплемента него мембране од немодификоване целулозе (већи степен биокомпатибилности). Главна ограничења тих мембрана јесу: већи степен апоптозе неутрофила, већи степен активације система комплемента и већи степен стварања проинфламаторних цитокина, као и мањи клиренс бета-2-микроглобулина него код синтетских мембрана за хемодијализу [5, 6]. Од свих мембрана с целулозом, СТА мембране имају највећи степен биокомпатибилности и узрокују најмањи степен активације система комплемента [5, 6].

Синтетске мембране чине полимери, као што су: полисулфон – PS (енгл. polysulphone), полиетерсулфон – PES (енгл. Polyethersulphone), полиметилметаакрилат – PMMA (енгл. Polymethyl methacrylate), полиакрилонитрил – PAN (енгл. Polyacrylonitrile), поликарбонат (енгл. Polycarbonate), полиамид – PAM (енгл. Polyamide) и полиетиленковинил алкохол – EVAL (енгл. Polyethylene-co-vinil alcohol). У поређењу с целулозним мембранама, синтетске мембране имају веће поре, бољу хидрауличну пропустљивост, већи капацитет ултрафилтрације, већу способност уклањања супстанција (већи клиренс супстанција). Полисулфонске мембране добро уклањају бета-2-микроглобулин и обезбеђују мању стопу смртности него целулозне мембране. PMMA мембране имају већи степен уклањања уремијских токсина средње молекулске масе и нижи степен индукције стварања проинфламаторних цитокина него полисулфонске мембране [5, 6]. Биоактивне мембране имају добру биокомпатибилност и обезбеђују антиоксидациону заштиту. Мембране обложене витамином Е смањују резистенцију на дејство еритропоетина, смањују микроинфламацију (смањују концентрацију прозапаљенских цитокина и хепцидина), спречавају липидну пероксидацију и штите мембрану еритроцита (повећавају животни век еритроцита) [5, 6].

Употреба машина за хемодијализу с адекватном ултрафилтрацијом, бикарбонатна хемодијализа, high-flux мембране и ултрачиста вода за хемодијализу смањују ризик од настанка компликација и смртог исхода [5, 6].

2.2.3. Адекватност хемодијализе

За детаљну анализу оптималне процедуре користе се Kt/V ($spKt/V$), табела 1 [5, 6]. $spKt/V$ уреа индекс израчунава се према правилној формули: $spKt/V$ индекс = $-\ln(R-$

$0.008 \times t) + (4-3.5 \times R) \times 0.55 \text{ UF/V}$, где су: \ln – природни логаритам, R – однос урее после и пре дијализе, t – трајање дијализе у сатима, UF – ултрафилтрација у литрима, V – процењена запремина дистрибуције урее.

Табела 1. Доза дијализе

Доза дијализе исказује се као spKt/V индекс (single-pool Kt/V индекс).
Дозу дијализе треба мерити једном месечно.
Минимална препоручена доза треба да износи: $\text{spKt/V} \geq 1.20$.
Циљна препоручена доза треба да износи: $\text{spKt/V} \geq 1.40$.
Препоручено минимално трајање хемодијализе износи: $\geq 4 \text{ h}$.

Према препорукама JSDT (енгл. Japanese Society for Dialysis Therapy), минимални стандард за адекватну хемодијализу укључује: јачину крвног протока – $Q_b = 200$ и дијализне течности – $Q_d = 500$, дијализатор с мембраном која има високе перформансе, три пута недељно у трајању појединачне сеансе хемодијализе од најмање 4 h [4]. За процену дозе дијализе користи се spKtV индекс. Мери се једном месечно, минимална адекватна доза дијализе исказана преко spKtV износи 1.20, а циљни spKtV индекс треба да износи ≥ 1.40 , за појединачну сесију хемодијализе у трајању од најмање 4 h [4]. За процену адекватности high-flux и хемодијафилтрације може се користити и мерење концентрације β_2 -микроглобулина у серуму пре сесије хемодијализе.

Циљна преддијализна концентрација β_2 -микроглобулина у серуму треба да износи 25 mg/l [4]. За процену ефикасности дијализе треба одређивати spKt/V индекс (показатељ уклањања уремијских токсина мале молекулске масе) и преддијализну концентрацију β_2 -микроглобулина у серуму (показатељ уклањања уремијских токсина средње молекулске масе) [4]. Концентрацију β_2 -микроглобулина треба мерити на свака три месеца, као и концентрисаност албумина у серуму болесника који се лече хемодијафилтрацијом с high-flux мембранама због могућности губитка велике количине

албумина у току саме сеансе хемодијализе [4]. У ширем контексту, квалитет хемодијализе процењује се на основу краткорочних, средњорочних и дугорочних критеријума. Краткорочни критеријуми јесу: хемодинамска стабилност болесника у току сеансе хемодијализе и мерење $spKt/V$ индекса. Предијализна концентрација β_2 -микроглобулина у серуму, нутритивни статус и квалитет живота (QOL) користе се као средњорочни и дугорочни критеријуми. Статус нутриције процењује се на сваких шест месеци и укључује мерење: концентрације албумина, преалбумина и трансферина у серуму, као и мерење С-реактивног протеина [4].

2.2.4. Ултрачист раствор за хемодијализу

Дијализна течност представља комбинацију воде за дијализу и концентрованог електролитског раствора и назива се дијализат, тј. течност за дијализу. Течност која излази из дијализатора представља комбинацију течности за дијализу и токсичних молекула одстрањених из крви болесника [7]. Вода која се меша с концентрованим електролитским раствором, уз претходни третман у систему за припрему воде, назива се вода за дијализу [7]. Током стандардне хемодијализе (3 x недељно по 4 h) организам болесника изложен је деловању приближно 360 литара раствора за дијализу. Због тога је неопходан висок микробиолошки квалитет раствора за дијализу (ултрачист раствор за дијализу), а клиничка испитивања показују његов повољан утицај на исход лечења болесника [7]. Према препорукама ЕВРП/ЕРБП (European Best Practice Guidelines/European Renal Best Practice), ултрачист раствор за high-flux хемодијализу и хемодијафилтрацију дефинише се као раствор (течност) у коме је број колонија бактерија < 0.1 CFU/ml, а концентрација ендотоксина – E < 0.03 EU/ml [6].

Раствор за супституцију (хемодијафилтрација) је стерилан уколико је број колонија $< 10^{-6}$ CFU/ml (< 1 CFU у 1000 l), а концентрација ендотоксина мања од 0.03 EU/ml [6]. За хемодијализу са low-flux мембраном, према садашњим препорукама, концентрација ендотоксина треба да је ≤ 0.50 EU/ml (≤ 0.25 EU/ml) и број колонија ≤ 100 CFU/ml (≤ 50 CFU/ml) [7].

Бактеријски продукти процесима повратне дифузије и филтрације (backdiffusion/backfiltration) из раствора за дијализу, преко дијализне мембране

(величина пора на мембрани за дијализу, способност мембране да адсорбује ендотоксине, дебљина мембране), доспевају у крв болесника и испољавају биолошку активност (активација моноклеарних ћелија, појачано стварање и ослобађање прозапаљенских цитокина: $TNF\alpha$, IL-1, IL-6), а све то доводи до развоја микроинфламације и убрзане атеросклерозе (атеросклеротске болести срца и крвних судова) [7]. Ултрачист раствор за дијализу штити од развоја микроинфламације, смањује опадање резидуалне реналне функције бубрега, омогућава бољи нутритивни статус болесника, повећава осетљивост еритроцитне лозе на дејство еритропоетина, смањује кардиоваскуларни морбидитет и морталитет болесника који се лече дијализом [7].

2.3. Хемодијафилтрација

Хемодијафилтрација је метода лечења за замену функције бубрега, а у знатној мери поправља исход лечења болесника у завршном стадијуму хроничне болести бубрега. Преваљенција болесника који се лече on-line хемодијафилтрацијом у сталном је порасту (20%). Хемодијафилтрација представља модалитет вантелесне терапије за замену функције бубрега, која комбинује дифузију и конвекцију. Комбиновањем дифузије и конвекције, у току третмана хемодијафилтрације, кроз семипермеабилну high-flux дијализну мембрану уклањају се супстанције мале и средње молекулске масе (боље се уклањају супстанције средње молекулске масе) [8-10].

Примењују се високопроточне семипермеабилне дијализне мембране, чији је коефицијент ултрафилтрације већи од 20 ml/h/mmHg/m^2 (коефицијент просејавања, *sieving coefficient*, за β_2 -микроглобулин већи је од 0.60) [8-10].

2.3.1. Основни принципи

Два основна принципа хемодијафилтрације јесу дифузија и конвекција. Уремијски отрови мале и средње молекулске масе уклањају се овим процесима. [8-16]. У зависности од места инфузије раствора за супституцију, хемодијафилтрација може бити предилуциона (артеријска линија) и постдилуциона (венска линија). Код постдилуционе хемодијафилтрације раствор за супституције укључује се после

филтера. Постдилуциона хемодијафилтрација ефикаснија је од предилуционе хемодијафилтрације, а главни њени потенцијални недостаци су: хемоконцентрација и таложење протеина плазме на површину дијализне мембране (зачепљење пора мембране, оклудирање капиларних влакана дијализатора) [8-16]. То може да доведе до повећања трансмембранског притиска (TMP), смањеног клиренса супстанције и последичне коагулације у вантелесној циркулацији. Јачина ултрафилтрације (конвекције) зависи од фракције филтрације – FF (енгл. Fraction Filtration). Фракција филтрације дефинише се као однос јачине ултрафилтрације и јачине протока плазме, односно однос јачине ултрафилтрације (Q_{uf}) и јачине протока крви (Q_b). Зависи од хематокрита и концентрације протеина у серуму болесника, и треба да износи 20%–25%. Вредности које су веће од 30% указују на ризик од повећаног губитка албумина и коагулације филтера [8–16]. Хемоконцентрација повезана с постдилуционом хемодијафилтрацијом може се спречити инфузијом раствора за супституцију пре филтера (предилуциона хемодијафилтрација). Код предилуционе хемодијафилтрације, због високе стопе ултрафилтрације, смањена је ефикасност дифузије и конвекције (смањен је клиренс супстанција / уремијских токсина) [8–16].

У клиничкој пракси, широм света, саветује се постдилуциона on-line хемодијафилтрација. Она ефикасно уклања уремијске токсине средње молекулске масе. Ефикасност зависи од јачине протока крви – Q_b ($Q_b > 350 \text{ ml/min}$), поузданог васкуларног приступа за хемодијализу (артерио-венска фистула с протоком крви – $Q_{avf} \geq 600 \text{ ml/min}$) и карактеристика дијализатора, табела 2 [8–16].

Табела 2. Препоручене карактеристике дијализатора за on-line хемодијафилтрацију

Р. бр.	Препоручене карактеристике дијализатора
1.	Висок коефицијент ултрафилтрације – $K_{uf} > 40 \text{ ml/h/mmHg/m}^2$
2.	Коефицијент просејавања за β_2 -микроглобулин > 0.60
3.	Коефицијент просејавања за албумин < 0.001
4.	Губитак албумина $< 4.0 \text{ g}$ по једној сесији on-line HDF
5.	Густина капилара > 11.000 омогућава проток дијализата $Q_d = 400\text{--}500 \text{ ml/min}$
6.	Унутрашњи дијаметар капилара дијализатора $< 200 \text{ }\mu\text{m}$
7.	On-line HDF постдилуцију ограничавају: Q_b , висок H_{ct} , $FF \sim 30\%$, унутрашњи дијаметар капилара $> 200 \text{ }\mu\text{m}$, притисак пре филтера 700 mmHg
8.	Стерилизација без етилен-оксида
9.	Добра биокомпатибилност, избегавати токсичне супстанције: bisphenol A (BPA)

Q_b – јачина протока крви, Q_d – јачина протока дијализата

У факторе који утичу на конвекцију (конвективни транспорт) спадају: чиниоци који су у директној вези са клиничким карактеристикама и препорученим параметрима, као и технички чиниоци саме машине. Пацијент којима је неопходно лечење хемодијафилтрацијом, неопходно је да имају јачину крвног протока већу од 350-400, односно проток крви кроз АВФ који је већи од 500–600 ml у току једног минута [8–16].

2.3.2. Оптимизација конвективног волумена

Ефективни конвективни волумен (V_{conv}) јесте укупни волумен који се филтрира у току третмана, укључујући и нето ултрафилтрацију (стварни губитак течности из организма болесника у току третмана хемодијафилтрације). Он представља производ јачине конвективног протока (Q_{conv}) и дужине трајања сесије on-line хемодијафилтрације (T): $V_{conv} = Q_{conv} \times T$. Јачина конвективног протока (Q_{conv})

представља јачину укупне ултрафилтрације (Q_{uf}), односно збир јачине протока раствора за супституцију (Q_s) и нето ултрафилтрације (Q_{nuf}): $Q_{conv} = Q_{uf} = Q_s + Q_{nuf}$ [8–16].

Најзначајнији фактори који утичу на остваривање високог конвективног волумена јесу: тип васкуларног приступа, игле за хемодијафилтрацију, фракција филтрације, рецикулација, тип дијализатора и врста антикоагулације. Циљни конвективни волумен треба да износи – $V_{conv} \geq 24$ литара по сесији (остварује се само код 22% болесника који се лече постдилуционом on-line хемодијафилтрацијом) [8–16]. Висока јачина протока крви (Q_b) круцијална је за остваривање високог конвективног волумена (V_{conv}). Јачина протока крви (Q_b) зависи од протока крви кроз васкуларни приступ и дијаметра артеријске и венске игле које се користе за пункцију васкуларног приступа. Болесници с централним венским катетером нису погодни за постдилуциону on-line хемодијафилтрацију због ограничене јачине протока крви (није могуће остварити проток крви – $Q_b > 250$ ml/min). Код болесника с добрим васкуларним приступом и протоком $Q_{avf} \geq 600$ ml/min користе се игле величине 15G (дијаметар 1.8 mm). Те игле обезбеђују проток крви – $Q_b = 350\text{--}450$ ml/min [7–16]. Фракција филтрације (FF) представља однос јачине конвективног протока (Q_{conv}) и протока крви (Q_b): $FF (\%) = (Q_{conv}/Q_b) \times 100$, односно $FF(\%) = [(Q_s + Q_{nuf})/Q_b] \times 100$, где су: Q_{conv} – јачина укупне ултрафилтрације, односно конвективног протока, а Q_b – јачина протока крви. Препоручена циљна фракција филтрације треба да износи – $FF = 20\%\text{--}25\%$ [7–16]. On-line хемодијафилтрација обавља се с високопроточним мембранама које имају коефицијент ултрафилтрације – $K_{uf} \geq 20$ ml/h/mmHg/m². На конвективни транспорт могу да утичу површина мембране, њена дебљина, величина и густина њених пора (утичу на коефицијент просејавања / sieving coefficient), материјал мембране, дужина и дијаметар капилара дијализатора [8–14].

За оптимизацију фракције филтрације треба користити филтере с дијализним мембранама површине веће од 2.0 m² (≥ 2.0 m²), проценити статус коагулације и оптимизовати вантелесну антикоагулацију, а код болесника с хематокритом ≥ 0.35 ($Hct \geq 0.35$) треба кориговати дозу еритропоетина [8–16]. Најчешће коришћени дијализатори за хемодијафилтрацију јесу: Polyflux 210H (површина 2.1 m², $K_{uf} = 85$ ml/mmHg/h), Fx Cordiax 1000 (површина 2.3 m², коефицијент ултрафилтрације – $K_{uf} = 76$ ml/mmHg/h)

[8–16]. Превенирање тромбозе вантелесне циркулације учиниће антикоагулација. Хепарин који је нефракционисани примењује се као интравенски болус на почетку, а продужава се континуираном применом [8–16].

2.4. Уремијски токсини

Последњих деценија сама технологија дијализе је напредовала и омогућила повољнији исход болесника који се лече редовним хемодијализама [17]. Данас су на располагању нове мембране које имају висок клиренс уремијских токсина средње молекулске масе [17].

2.4.1. Класификација уремијских токсина

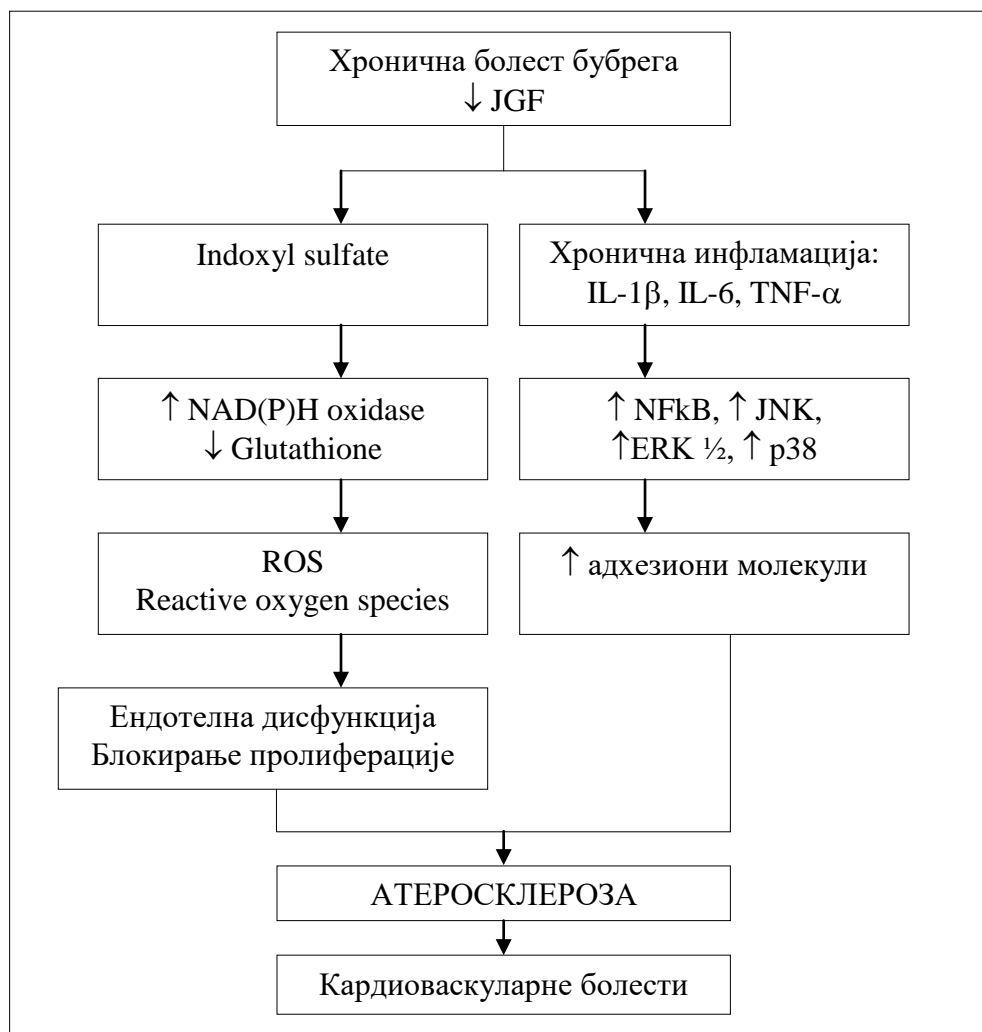
Физичко-хемијске карактеристике и растворљивости у води, омогућавају поделу уремијских токсина у три групе: уремијски токсини мале молекулске масе растворљиви у води ($MW < 500 \text{ Da}$), уремијски токсини који се везују за протеине плазме у високом проценту ($> 90\%$, углавном су мале молекулске масе) и уремијски токсини средње молекулске масе ($> 500 \text{ Da}$), табела 3 [17–19].

Табела 3. Класе уремијских токсина

Класа молекула	Молекулска маса	Прототип	MW прототипа
Мали токсини растворљиви у води	$< 500 \text{ Da}$	уреа	60
Токсини везани за протеине плазме	углавном $< 500 \text{ Da}$	Indoxyl sulfate	213.2
Токсини средње молекулске масе	$\geq 500 \text{ Da}$	β_2 -microglobulin	11.818

Уремијски токсини који се везују за протеине плазме јесу хетерогена група малих супстанција, које се у високом проценту (> 90%) везују за протеине плазме и тешко се уклањају конвенционалном хемодијализом (уклањају се у количини од око 30%) [17–19]. Три најзначајнија уремијска токсина која се у високом проценту везују за протеине плазме, са аспекта атеросклеротских кардиоваскуларних болести јесу: p-cresyl sulfate, indoxyl sulfate и хомоцистеин [17-20]. Indoxyl sulfate индукује оксидациони стрес, поремећај функције ендотела, васкуларну инфламацију и калцификацију и предиктор је неповољног исхода болесника који се лече редовном хемодијализом, схема 1 [20].

Схема 1. Утицај indoxyl sulfate на развој атеросклерозе



2.4.2. Мембране за хемодијализу и уремијски токсини

Последњих деценија све је веће интересовање за уремијске токсине средње молекулске масе [21, 22]. Нове мембране за хемодијализу уклањају уремијске токсине процесима дифузије, ултрафилтрације (конвекције) и адсорпције [21, 22]. Развој нанотехнологије омогућио је израду мембрана за хемодијализу које имају способност да уклањају уремијске токсине средње молекулске масе, као што су: МСО мембране (енгл. Middle Cut-Off) и НСО мембране (енгл. High Cutt-Off) [21, 22].

Мембране за хемодијализу имају централну улогу у процесу хемодијализе и хемодијафилтрације. За процену ефикасности дијализне мембране користи се коефицијент масеног преноса – КоА. Он представља производ коефицијента преноса (Ко) и површине мембране (А) [21, 22]. КоА мембране за хемодијализу зависи од густине (дистрибуције) и величине пора. У зависности од КоА дијализатори могу бити нискоефикасни (КоА < 300), умерено ефикасни (КоА = 300–600) и вискоефикасни (КоА > 600–700) [21, 22]. Ултрафилтрациони капацитет дијализатора (обезбеђује клиренс уремијских токсина средње и велике молекулске масе) квантификује се на основу коефицијента ултрафилтрације – Кuf. У зависности од коефицијента ултрафилтрације, дијализатори су: low-flux (Кuf < 10 ml/h x mmHg) и high-flux (Кuf > 20 ml/h x mmHg) [21, 22]. За on-line хемодијафилтрацију користе се високопроточне high-flux семипермеабилне дијализне мембране. За оптимизацију фракције филтрације (FF), у току сеансе on-line хемодијафилтрације треба користити филтере с мембранама површине $\geq 2.0 \text{ m}^2$. За оптималну on-line хемодијафилтрацију и остваривање оптималне стопе конвективног протока, препоручује се фракција филтрације – FF = 20%–25% (највише до 30%) [21, 22]. Проточност дијализатора редефинисана је на основу клиренса бета-2-микроглобулина. Ниска проточност дефинише се као клиренс бета-2-микроглобулина мања од 10 ml/min, средњи флуks као клиренс бета-2-микроглобулина 10–20 ml/min и високи флуks као клиренс бета-2-микроглобулина већи од 20 ml/min [21, 22]. Високопроточни (high-flux) дијализатори имају sieving coefficient (коефицијент просејавања) бета-2-микроглобулина > 0.60 и могу уклањати уремијске токсине средње молекулске масе 10–50 kDa [21, 22].

На основу клиренса бета-2-микроглобулина разликујемо пет типова мембрана за дијализу. Код типа 1, клиренс бета-2-микроглобулина износи 10 ml/min, код типа 2 10–30 ml/min, код типа 3 30–50 ml/min, код типа 4 50–70 ml/min, а код типа 5 ≥ 70 ml/min. Године 2016. промењена је класификација мембрана, а нова је укључила sieving коефицијент за албумин, тако да се разликују два типа мембрана у зависности од клиренса бета-2-микроглобулина. Код типа 1 клиренс је мањи од 70 ml/min, а код типа 2 клиренс бета-2-микроглобулина је ≥ 70 ml/min. Код сваког типа разликујемо два подтипа у зависности од sieving коефицијента за албумин. Код подтипа 1 sieving коефицијент за албумин мањи је од 0.04, а код подтипа 2 sieving коефицијент за албумин је ≥ 0.04 [21–25].

Мембране високих перформанси – НРМ (енгл. High Performance Membranes) јесу мембране које имају висок степен биокомпатибилности, веће поре него конвенционалне мембране за хемодијализу, висок клиренс бета-2-микроглобулина и већи степен адсорпције него конвенционалне мембране за хемодијализу [25]. Величина пора код НРМ мембрана треба да омогући јачину губитка албумина мању од 3.0 g по сесији, с протоком крви- Q_b од 200 ml/min и протоком дијализата Q_d од 500 ml/min [25].

МСО мембране спадају у НРМ мембране. У последњој деценији развијена је нова класа мембрана, МСО мембране: cellulose triacetate-based FH 70/150 (Nipro), polysulphone-based APS-1050 (Asahi), PMMA-based BK-F/BG 2.1 (Toray) и Helixone polysulphone based FX-E (Fresenius Medical Care). МСО хемодијализа (енгл. Medium Cut-Off hemodialysis) означава се још и као проширена хемодијализа – ЕН (енгл. Expanded Hemodialysis). Она уклања уремијске токсине молекулске масе мање ≤ 65 kDa, као што су: цитокини, слободни лаки ланци моноклонских имуноглобулина и миоглобин, табела 2 [21–26]. On-line хемодијафилтрација обезбеђује клиренс уремијских токсина молекулске масе највише до 25 kDa, док савремене, нове medium cut-off мембране имају много већи потенцијал да ефикасно уклањају уремијске токсине молекулске масе 25–50 kDa, с ограниченим губитком албумина (≤ 3.0 g / по сесији дијализе) [21–26]. Највећи коефицијент просејавања (SC) за албумин (енгл. Sieving Coefficient) имају НСО мембране (SC = 0.20), код high-flux мембрана SC за албумин износи 0.01, а код МСО мембрана SC износи 0.008.

Уремијски токсини који се у високом проценту везују за протеине плазме (indoxyl sulfate, p-cresol, p-cresulfate, p-cresylglucuronide, phenylacetic acid) најбоље се уклањају мембранама које имају способност адсорпције (PMMA мембране) [21–26]. Резултати досадашњих испитивања показују да МСО мембране треба да буду стандард лечења болесника редовним хемодијализама [21–26].

Мембране с великим порима – НСО (енгл. High Cut-Off), примарно се користе за акутно оштећење бубрега узроковано слободним лаким ланцима моноклонских имуноглобулина (kFLC-22.5 kDa, λFLC-45 kDa), као и за акутно оштећење бубрега узроковано сепсом. Међутим, у току сеансе хемодијализе са овим мембранама губи се велика количина албумина (9.0–23 грама по третману) и због тога се не примењују за лечење болесника редовним хемодијализама [21–26].

2.4.3. Клиничке компликације уремијских токсина

Главне дугорочне компликације лечења редовним хемодијализама јесу: повећан оксидациони стрес и развој атеросклерозе (атеросклеротске кардиоваскуларне болести), као и резистенција на дејство еритропоетина, β2-микроглобулин амилоидоза [21–26].

2.5. Оксидациони стрес

С обзиром да кардиоваскуларне болести представљају водећи узрок смрти болесника који су на хемодијализи, код ових болесника је висока преваленција традиционалних и нетрадиционалних фактора ризика. Оксидациони стрес је нетрадиционални фактор ризика за настанак кардиоваскуларних обољења [27].

2.5.1. Оксидациони стрес: патофизиолошки механизми

Оксидациони стрес дефинише се као оштећење ткива органа које настаје због поремећаја равнотеже између стварања слободних радикала и функције антиоксидационих система [28]. Слободни радикал је сваки атом или молекул с једним или више неспарених електрона. Процесима оксидације протеина, угљених хидрата,

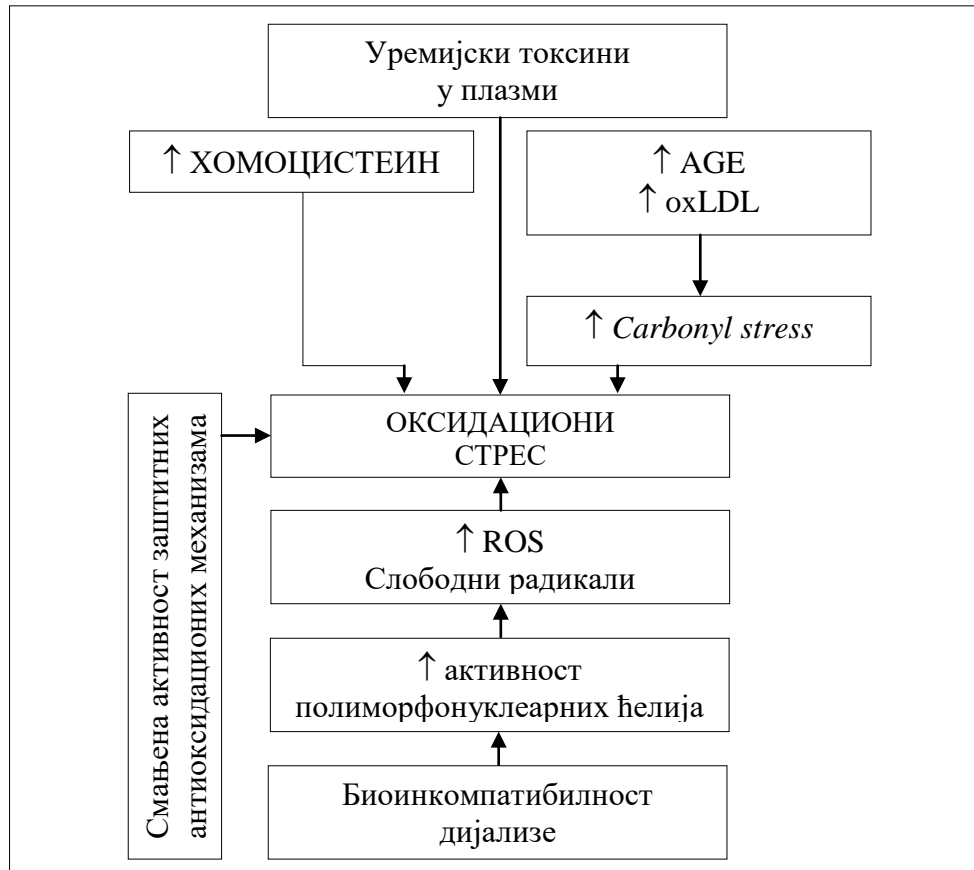
липида и нуклеинских киселина узрокују оштећење грађе и функције ћелија ткива органа [28]. Слободни радикали кисеоника стварају се у полиморфонуклеарним леукоцитима под дејством оксидазе NADPH (енгл. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate oxidase), која молекуларни кисеник претвара у супероксидни анјон [28]. Супероксидни анјон се под дејством супероксид дизмутаза (SOD) претвара у водоник-пероксид (H_2O_2). Супероксидни анјон и водоник пероксид су прекурсори за стварање јачих оксиданаса. Супероксидни анјон ($O_2^{\cdot-}$) реагује са оксидом азота (NO) и том приликом се стварају токсични производи азота, као што је пероксинитрит ($ONOO^{\cdot-}$) (нитрозативни стрес) [28]. Водоник-пероксид (H_2O_2) реагује с интрацелуларним гвожђем (Fe^{2+}) и том приликом настаје хидроксил радикал (OH \cdot), а реакција је позната под називом Fenton-ова реакција (класични оксидациони стрес) [28]. У оквиру Haber-Weiss-ове реакције, интеракцијом између супероксидног анјона и водоник-пероксида такође се ствара хидроксил радикал (OH \cdot). Под дејством мијелопероксидазе полиморфинуклеарних леукоцита (MPO), водоник-пероксид се у присуству јона хлора (Cl $^-$) претвара у хипохлорну киселину (HOCl). Хипохлорна киселина може реаговати с ендогеним аминима (R-NH $_2$), при чему настају хлорамини (RNH-Cl) (хлоровани стрес) [28]. Природни антиоксидациони систем састоји се од ензима и неензимског система. Супероксид дизмутаза (SOD) је представник прве линије антиоксидационог система. Она убрзава степен димутације супероксидног анјона у водоник-пероксид. Каталаза (CAT) претвара водоник-пероксид у воду, а то исто ради и глутатион пероксидаза (GSH-Px), али у присуству глутатиона, даваоца водоника [28]. У неензимске чистаче слободних радикала кисеоника спадају: витамин С, витамин Е, N-ацетилцистеин, коензим Q10 [28].

2.5.2. Оксидациони стрес индукован хемодијализом

Пацијенти са крајњим степеном хроничне болести бубрега, а у чијем се лечењу спроводи хемодијализа, слободни радикали кисеоника повећано се стварају због прооксидационих фактора (одмакле године старости, дијабетес мелитус, хронични инфламаторни статус, уремијски миље, биоинкомпатибилна дијализна мембрана, присуство ендотоксина у раствору за хемодијализу) и смањене активности антиоксидационих механизма (недостатак витамина С и селена, недостатак витамина Е, смањена активност система глутатиона) [28, 29].

Хемодијализа је сама по себи окидач за повећано стварање слободних радикала кисеоника. Два главна патофизиолошка механизма повећаног стварања слободних радикала кисеоника у току сеансе хемодијализе јесу: биоинкомпатибилност дијализне мембране и присуство ендотоксина у раствору за хемодијализу, схема 2 [28, 29].

Схема 2. Узроци оксидационог стреса код уремијских болесника



Када крв болесника дође у додир са системом за хемодијализу активирају се систем комплемента и коагулације крви, тромбоцити, мононуклеарне и полиморфонуклеарне ћелије имунског система, а могу се јавити и реакције преосетљивости [30]. У току сеансе хемодијализе, због директног контакта крви и површине мембране за хемодијализу долази до директне активације полиморфонуклеарних леукоцита, који због активираних мијелопероксидазе (МРО) појачано стварају слободне радикале кисеоника [30]. Мерење концентрације мијелопероксидазе у серуму, ослобођене из неутрофила у току сеансе хемодијализе, показатељ је тежине оксидационог стреса индукованог коришћењем мембрана за хемодијализу различитог степена биоинкомпатибилности [30].

Ендотоксини и други продукти бактерија, процесима повратне дифузије и филтрације прелазе из раствора за дијализу, преко дијализне мембране (величина пора на мембрани за дијализу, способност мембране да адсорбује ендотоксине, дебљина мембране), у крв болесника и активирају моноклеарне и полиморфонуклеарне ћелије [31]. Активирани ћелије појачано стварају и ослобађају слободне радикале кисеоника и прозапаљенске цитокине (интерлеукин-1, интерлеукин-6, фактор туморске некрозе – TNF α), а све то за последицу има развој оксидационог стреса, микроинфламације и убрзане атеросклерозе [31]. Ултрачист раствор за дијализу дефинише се као раствор у коме је број колонија бактерија < 0.1 CFU/ml, а концентрација ендотоксина – Е < 0.03 EU/ml. Он се користи за high-flux хемодијализу и хемодијафилтрацију. Ултрачист раствор за дијализу спречава развој оксидационог стреса, микроинфламације, успорава опадање резидуалне реналне функције бубрега, поправља нутритивни статус болесника, повећава осетљивост еритроцитне лозе на дејство еритропоетина, смањује кардиоваскуларни морбидитет и морталитет пацијената који у свом лечењу имају константну дијализу [31].

Када говоримо о пацијентима са редовном хемодијализом ту је смањена активност ензимских и неензимских антиоксидационих система. Смањена активност антиоксидационих ензима (супероксид дизмутаза, глутатион пероксидаза) настаје због смањене концентрације елемената у трагу, као што су селен, бакар и цинк. Концентрација елемената у трагу је смањена због недовољног уношења, али и повећаног губитка у току сеансе хемодијализе [32]. Због недостатка витамина С и витамина Е смањен је капацитет неензимских антиоксидационих система заштите [32, 33].

2.5.3. Клиничке последице оксидационог стреса

У главне клиничке последице оксидационог стреса спадају развој и убрзање процеса атеросклерозе, развој анемије и резистенција на дејство еритропоетина, малнутриција и амилоидоза повезана с дијализом [34]. Супероксидни анјон оксидише тетрахидробиоптерин (ендогени кофактор неопходан за активност ензима синтазе NO) и на тај начин смањује стварање азотног монооксида (NO). Азотни моноксид непрекидно се ствара у ендотелним ћелијама, дејством синтазе NO на L-аргинин. Протективно

дејство на кардиоваскуларни систем (када говоримо о блокади пролиферације васкуларних глатко-мишићних ћелија, агрегабилност тромбоцита и адхезију моноцита за ендотелијум). Активност синтазе NO може бити блокирана ендегеним метиларгининима. За ендегени блокатор синтазе NO најзначајнији је асиметрични диметиларгинин [34]. Највећим делом излучује се путем бубрега, а делом се под утицајем диметил-диамино-хидролазе (DDAH) разграђује до цитрулина. Оксидациони стрес блокира активност DDAH, због чега се минимализује разградња асиметричног диметиларгинина, а његово скупљање у ендотелним ћелијама зауставља синтазу азотног монооксида, чиме је започет процес атеросклерозе [34]. Повећана концентрација хомоцистеина у серуму још је један значајан блокатор активности ензима диметил-диамино-хидролазе (DDAH) у ендотелним ћелијама артеријских крвних судова. Повећана концентрација хомоцистеина присутна је у 80%. Дефинише се као концентрација хомоцистеина у серуму већа од 15 $\mu\text{mol/l}$, а настаје као последица смањене активности ензима кључних у метаболизму хомоцистеина, као што су редуктаза 5-метил-тетрахидрофолата, синтаза метионина и β -синтаза цистатиона. Смањена активност тих ензима последица је смањене концентрације витамина B₆, B₁₂ и фолне киселине (кофактури поменутих ензима) [34, 35]. Недостатак витамина B₆ настаје када је концентрација витамина B₆ у серуму < 20 nmol/l , недостатак витамина B₁₂ када је концентрација витамина B₁₂ у серуму < 200 pg/ml , а недостатак фолне киселине као концентрација фолне киселине у серуму < 2.2 mg/ml [34, 35]. Код здраве популације нормална концентрација ADMA у плазми је $\leq 1.0 \mu\text{mol/l}$, код болесника на хемодијализи $\leq 2.2 \mu\text{mol/l}$, а у концентрацијама 3–15 $\mu\text{mol/l}$ ADMA блокира стварање NO у ендотелним ћелијама крвних судова и започиње процес атеросклерозе [36, 37]. Микроинфламација. присутна је код 30%–50% ових болесника. Микроинфламација узрокује накупљање неутрофила и моноцита у атеросклеротском плаку, а ослобађање слободних радикала кисеоника (оксидациони стрес), цитокина и металопроотеиназа могу да доведу до руптуре капе атеросклеротског плака и развоја акутног коронарног догађаја [38, 39].

2.5.4. Параметри оксидационог стреса код болесника на хемодијализи

Слободни радикали кисеоника имају веома кратак полуживот (једна секунда), па се клиничка процена оксидационог стреса врши мерењем стабилних продуката оксидације. Параметри оксидационог стреса укључују: продукте липидне пероксидације (као што су: acrolein, malonyldialdehyde, 4-hydroxynonenal, TBARS, F2-isoprostanes), завршне продукте оксидације липида (oxLDL, анти-oxLDL антитела), оксидативно измењене протеине (завршни продукт оксидације протеина – AOPP), завршне продукте гликације протеина (AGE), евалуацију активности антиоксидационих ензима (садржај SOD и глутатион пероксидазе у еритроцитима), евалуацију неензимских антиоксиданаса (витамин С у плазми, садржај глутатиона и витамина Е у еритроцитима) и инфламаторне протеине (CRP, албумин) [40]. Као параметар оксидације нуклеинских киселина користи се 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), а његова концентрација у серуму и у леукоцитима повећана је код болесника који се лече редовном хемодијализом [40].

2.5.5. Лечење оксидационог стреса код болесника на хемодијализи

Антиоксидациона стратегија састоји се: у надокнади витамина С, витамина Е (α -токоферол), селена, N-ацетилцистеина и коензима Q10. Код болесника који су на редовним хемодијализама присутан је недостатак витамина С, јер је пацијент у са мањим дијететским уносом (поврће и воће поред витамина С, има у свом садржају и повећану количину калијума) и његовог уклањања у току процеса хемодијализе. Хемодијализом се елиминише 100–300 mg витамина С (смањује се за 30%–50%) [41]. Код болесника који се лече редовном хемодијализом, витамин С примењује се у дози од сто до двеста милиграма дневно, а може се применити и венски у дози 300–500 mg после сваке сесије хемодијализе током осам до дванаест недеља, уз одговарајући опрез за рано откривање системске оксалозе (потребно је мерење концентрације оксалата у серуму) [41]. Интравенска примена витамина С, доводи до умањења концентрације феритина и прозапаљенских медијатора у серуму, а смањује оксидативни стрес и резистенцију на дејство еритропоетина [41].

Витамин Е (α -tocopherol) има јако антиоксидационо дејство. Примењује се per os, а доза витамина Е може се исказати у интернационалним јединицама или милиграмима:

100 IU = 67 mg природног витамина Е [42]. Примена витамина Ц у дози 400–800 mg/дан у трајању од осам до дванаест недеља знатно смањује концентрацију малондиалдехида, oxLDL и TBARS-а у плазми болесника који се лече редовном хемодијализом. Употребом витамина Е превенира се оксидациони стрес, спречава развој и убрзање атеросклерозе и смањује дебљину интима-медија каротидних артерија код оних пацијената који приступају редовној хемодијализи [42].

N-ацетилцистеин (NAC) повећава стварање глутатиона, који има важну улогу у функцији антиоксидационих ензима, као што је глутатион пероксидаза (GSH-Px). Примењен у дози 600–1200 mg/дан током три до шест месеци знатно смањује концентрацију малондиалдехида (MDA) и асиметричног диметиларгинина (ADMA) у плазми, смањује индекс отпорности на утицај еритропоетина [42].

Коензим Q обезбеђује хомеостазу митохондрија и смањује оксидациони стрес (спречава оксидацију липида, протеина и нуклеинских киселина). Примењен у дози 1200–1800 mg на дан током четири до шест месеци, знатно смањује концентрацију завршних продуката оксидације протеина (AOPP) и малондиалдехида (MDA) у плазми болесника који се лече редовном хемодијализом [43].

On-line хемодијафилтрација смањује резистенцију на дејство еритропоетина. Смањење резистенције на дејство еритропоетина последица је повећаног уклањања хепцидина, медијатора инфламације и продуката оксидације липида, протеина и нуклеинских киселина у току сеансе хемодијафилтрације. Лечење *on-line* хемодијафилтрацијом током три до шест месеци знатно смањује инфламацију, оксидациони стрес, концентрацију хепцидина у серуму, чиме се повећава расположивост гвожђа за еритропоезу и смањује резистенција на дејство еритропоетина [44, 45].

Мембране за хемодијализу обложене витамином Е смањују концентрацију параметара липидне пероксидације у серуму, као што су: малондиалдехид (MDA), реактивне супстанције везане за тиобарбитуричну киселину (TBARS) и оксидовани LDL холестерол (oxLDL). Многа испитивања показују да ове врсте мембрана смањују и концентрацију параметара оксидативног оштећења нуклеинских киселина, као што је 8-OHdG, као и концентрацију параметара микроинфламације (CRP, интерлеукин-6) [46–53]. Дијализна мембрана обложена витамином Е смањује садржај 8-OHdG у леукоцитима болесника који се лече хемодијализом (смањује проценат оксидације DNA леукоцита). Примена тих мембрана обезбеђују добру контролу функције леукоцита, уз

евидентно антиоксидационо и антиинфламаторно дејство [46–53]. Лечење high-flux хемодијализом с полисулфонским мембранама обољеним витамином Е током шест месеци, знатно смањује оксидациони стрес, микроинфламацију, индекс отпорности на утицај еритропоетина и поправља лечење анемије у популацији пацијената са редовном хемодијализом [46–53].

Лечење анемије код болесника на хемодијализи укључује примену агенаса који стимулишу еритропоезу (ESA) и интравенску примену гвожђа (iron sucrose). Након примене интравенског гвожђа у дози од 100 mg (током 15–30 минута од инфузије) знатно се повећава концентрација слободних радикала кисеоника код ових болесника [54–57]. Ради спречавања развоја оксидационог стреса након i.v. примене гвожђа, 2015. године US FDA (енгл. Food and Drug Administration) одобрила је за одрасле болеснике који се лече хемодијализом препарат гвожђа – FPC (енгл. Ferric Pyrophosphate Citrate), који се примењује преко раствора за хемодијализу [54–57]. Једна ампула од 5 ml FPC (TrifericTM) дода се на сваких 2.5 галона бикарбонатног концентрата, тако да финална концентрација FPC у раствору за хемодијализу износи 110 µg/l (2.0 µmol/l). FPC се примењује код сваког третмана хемодијализе, а концентрацију феритина у серуму и zasiћење трансферина гвожђем (TSAT) треба мерити на свака три месеца. Када је преко 1000, а TSAT већи од 50% треба прекинути примену FPC, и даље користити стандардни бикарбонатни раствор за хемодијализу. Ако је концентрисаност феритина у серуму мања од 200 ng/ml потребно је применити i.v. гвожђе 400–500 mg, током наредних четири-пет третмана хемодијализе (100 mg/HD), а FPC треба континуирано примењивати. Када се постигне циљна концентрација феритина у серуму и zasiћења трансферина гвожђем, FPC треба примењивати континуирано, зато што се у току сваке сеансе хемодијализе губи 5–7 mg гвожђа (одржавање циљних вредности феритина и TSAT-a) [54–57]. Примена гвожђа преко раствора за хемодијализу смањује оксидациони стрес и резистенцију на дејство еритропоетина (доза еритропоетина смањује се за 35%) [54–57].

2.6. Резистенција на дејство еритропоетина

2.6.1. Дефиниција резистенције на еритропоетин

Хемоглобин у крви која је мања од 120 g/l код жена, односно 130 g/l код мушкараца означавамо као анемију [58]. Водећи узрок је недостајање ендогеног еритропоетина, а њене главне клиничке карактеристике су: прогресивно опадање реналне резидуалне функције, кардиоваскуларне болести, смањење когнитивних функција, као и квалитета

живота болесника, који се лече хемодијализом. Заступљена је код 90% болесника с тешким стадијумом хроничне болести бубрега ($GFR < 25-30 \text{ ml/min/1.73 m}^2$) [58]. Стимулаторе еритропоезе – ESA (енгл. Erythropoiesis Stimulatory Agents) треба применити када је вредност Hgb испод 110 g/l , а циљни ниво хемоглобина код пацијената са хемодијализом треба да буде $110-120 \text{ g/l}$ [58]. И поред примене одговарајуће дозе еритропоетина, код 5%–10% болесника (по неким ауторима и до 30%) који се лече редовном хемодијализом постоји резистенција на дејство еритропоетина (немогућност постизања циљне концентрације хемоглобина у крви) [58].

KDIGO (енгл. Kidney Disease Improving Global Outcomes) каже да резистенција на дејство еритропоетина дефинише се као немогућност остваривања циљне концентрације хемоглобина у крви из еритропоетин у дози ≥ 450 или $\geq 300 \text{ IU/kg/недељно (s.c.)}$ или дарбепоетина- α у дози $\geq 1.5 \text{ }\mu\text{g/kg/недељно}$ ($\geq 100 \text{ }\mu\text{g/недељно}$) [59, 60]. За процену резистенције на дејство еритропоетина користи се индекс резистенције еритропоетина – ERI (енгл. Erythropoietin Resistance Index) [59, 60]. Представља однос недељне дозе еритропоетина зависне од телесне масе и концентрације хемоглобина у крви (EPO/kg/недељно/Hb). Вредности индекса резистенције еритропоетина – $\text{ERI} > 1.0 \text{ IU/kg/недељно/gHb}$ за краткоделујуће или $\geq 0.02 \text{ }\mu\text{g/kg/недељно/gHb}$ за болеснике лечене дугоделујућим еритропоетином (дарбепоетин), указују на постојање резистенције на дејство еритропоетина [59, 60].

2.6.2. Фактори ризика за развој резистенције

У факторе ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина спадају: недостатак гвожђа, микроинфламација, оксидациони стрес, недостатак витамина D и секундарни хиперпаратиреоидизам, недостатак витамина C, витамина B₁₂, фолне киселине и L-карнитина, као и анти-EPO-антитела [59, 60].

Недостатак гвожђа може бити апсолутни и функционални [59, 60]. Апсолутни недостатак гвожђа најчешће настаје због окултног гастроинтестиналног крварења (уремички гастритис, антикоагулација вантелесне циркулације), а главни узроци су: микроинфламација, оксидациони стрес, недостатак витамина D и недостатак витамина C [59, 60]. Препоруке KDIGO (енгл. Kidney Disease Improving Global Outcomes), код

пацијената са редовном хемодијализом гвожђе треба применити i.v. путем када је сатурација трансферина гвожђем мања од тридесет посто [61, 62].

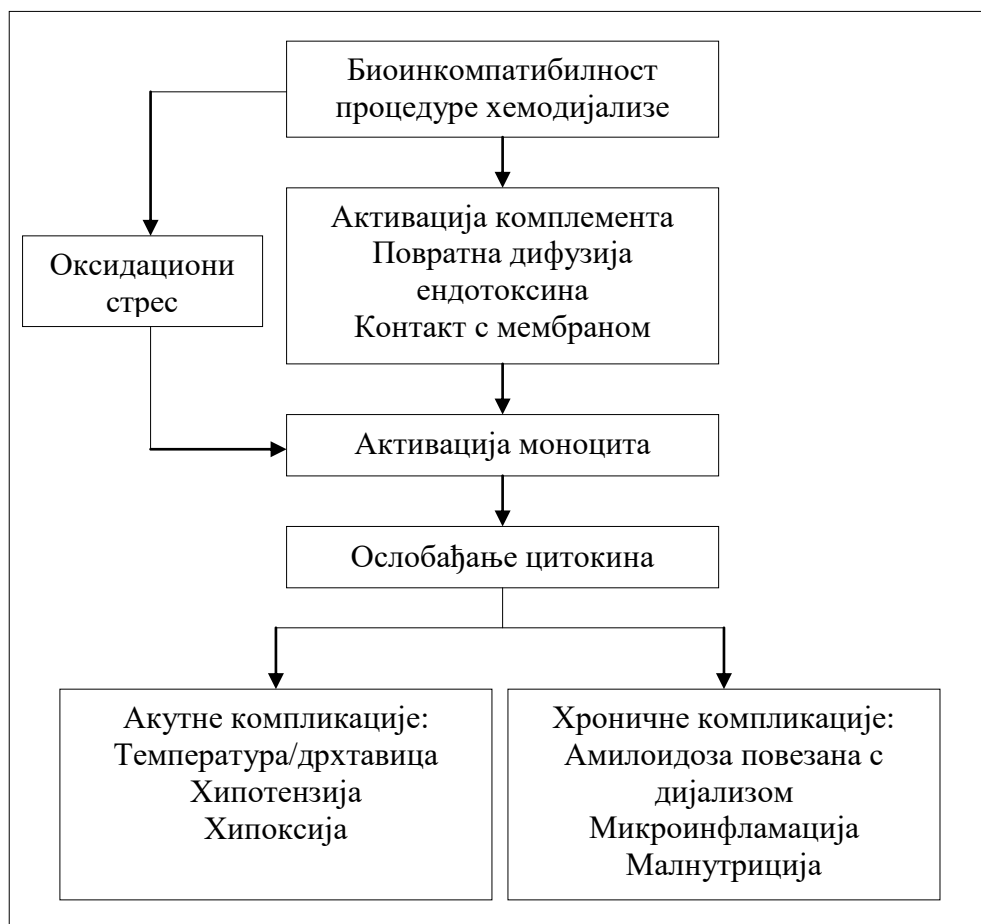
Главни недостаци i.v. примене гвожђа је оштећење крвних судова (отежана могућност артериовенске фистуле). Непожељне реакције на примену гвожђа могу бити: алергијске и токсичне [61, 62]. Погоршање постојећих инфекција и развоја секундарне хемохроматозе (интравенско гвожђе не треба примењивати код болесника с активном системском инфекцијом) [61, 62]. Оксидациони стрес (слободни радикали кисеоника) убрзава развој атеросклерозе и повећава опасност од развоја кардиоваскуларних компликација. Неконтролисана употреба, може узроковати накупљањем у паренхиматозним органима, због чега долази до развоја поремећаја функције тих органа [61, 62].

Микроинфламација (CRP > 5 mg/l) може убрзати развој атеросклерозе. Присутна је код 30%–50% пацијената на хемодијализи, а њени главни узроци су: повећано стварање и умањена елиминација, која потстиче окултне инфекције васкуларног приступа за хемодијализу, хронична периодонтална болест, биоинкомпатибилност вантелесне циркулације и мембране за хемодијализу, конвенционални раствор за хемодијализу (микробиолошки квалитет воде и раствора за хемодијализу), схема 3 [39]. Проинфламаторни медијатори испољавају директно и индиректно негативно дејство на процес хематопоезе. У директна негативна дејства спадају: блокирање пролиферације и диференцијације ћелија прекурсора еритроцитне лозе, блокирање секреције ендогеног еритропоетина, а главно индиректно негативно дејство је стимулација синтезе и лучења хепцидина у хепатоцитима (IL-6 стимулише секрецију хепцидина) [39]. Успоравање опадања резидуалне функције бубрега, побољшање нутритивног статуса болесника, повећање осетљивости еритропоетина и смањење кардиоваскуларни морталитета пацијената, могуће је уколико имамо ултрачист раствор за хемодијализу. [39].

Смањена концентрација CRP-а у серуму, спречава резистенцију на дејство еритропоетина и омогућавају постизање и одржавање циљне концентрације хемоглобина у крви ових болесника [39].

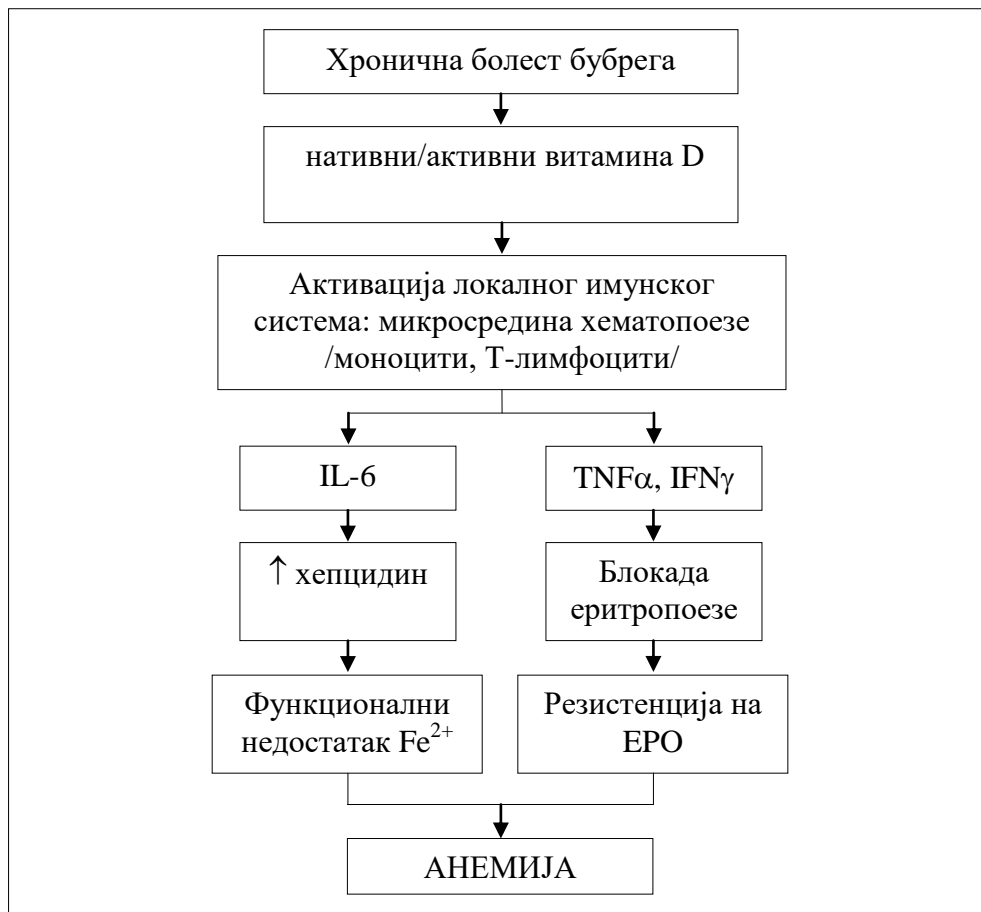
Један од чинилаца ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина је недостатак витамин Д, а дефинише се као тежак ако је концентрисаност у серуму мања од < 10 ng/ml [63].

Схема 3. Микроинфламација код пацијената који се лече редовном хемодијализом
Патофизиолошки механизам развоја



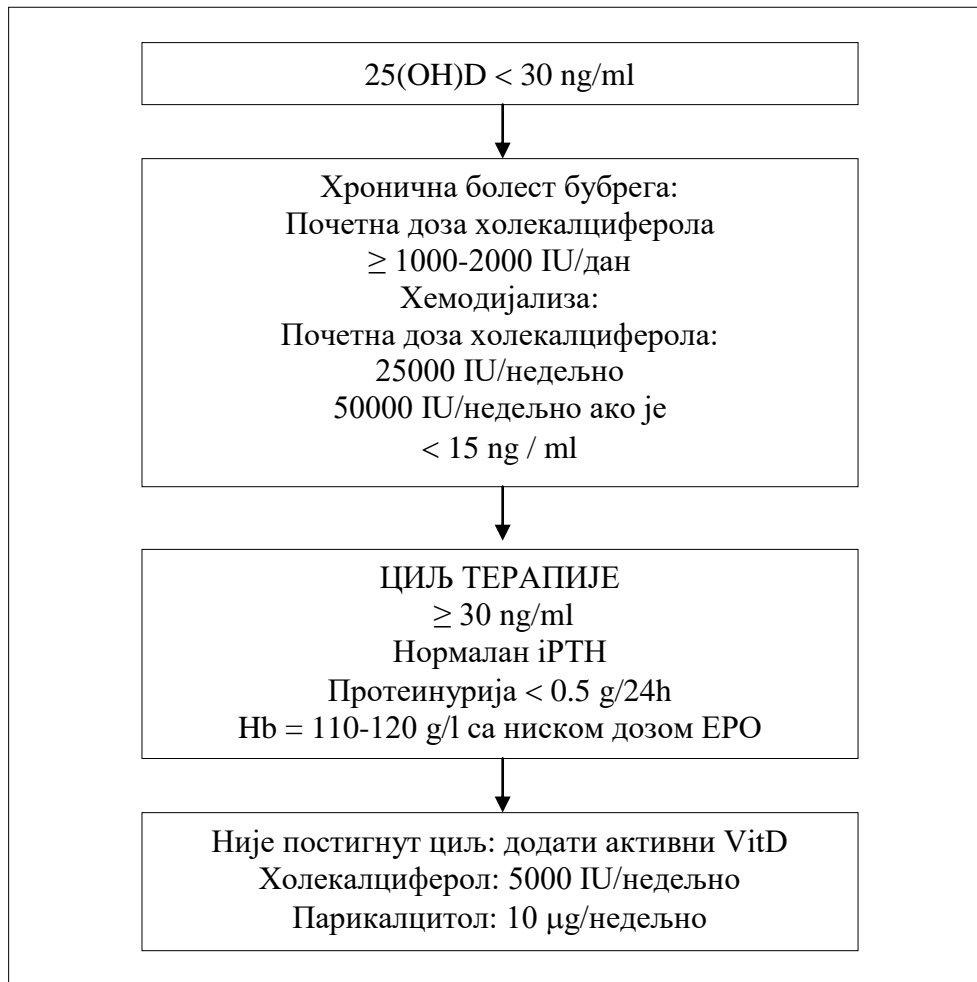
Главне клиничке последице недостатка витамина D јесу: развој секундарног хиперпаратиреоидизма, смањена густина коштаног ткива (остеопороза), атеросклероза и васкуларна калцификација, поремећај функције когниције, резистенција на дејство еритропоетина и развој анемије, прогресивни губитак резидуалне функције бубрега и неповољан исход болесника [63]. Ћелије имунског система у костној сржи (моноцити, Т-лимфоцити) на површини мембране испољавају рецептор за витамин D – VDR (енгл. Vitamin D Receptor). Због недостатка витамина D, моноцити и Т-лимфоцити у костној сржи појачано стварају и луче прозапаљенске цитокине, они блокирају пролиферацију и диференцијацију ћелија прекурсора еритроцитне лозе, секрецију ендогеног еритропоетина, стимулишу секрецију хепцидина и развој функционалног недостатка гвожђа, схема 4 [63].

Схема 4. Развој анемије услед присутне резистенције



Терапија укључује примену ергокалциферола или холекалциферола током три до шест месеци [63]. Ако је реч о тешком дефициту витамина D, ергокалциферол се примењује у дози од педесетхиљада на седам дана током првог месеца, а затим се наставља истом дозом месечно у току 3 мес. Према препорукама KDIGO, примена ергокалциферола је индикована све пораста вит. D преко 30 ng/ml (30–80 ng/ml) [63]. Поред ергокалциферола може се примењивати и холекалциферол (витамин D₃) у дози од 25.000 IU/недељно. Код тежих дефицита, терапија је три до шест месеци, до постизања циљних вредности., схема 5 [63]. Концентрацију витамина D у серуму треба мерити једанпут годишње [63].

Схема 5. Алгоритам за примену холекалциферола код болесника који болују од хроничне болести бубрега



Секундарни хиперпаратиреозидизам је честа компликација. Главни фактори развоја секундарног хиперпаратиреозидизма јесу: недостатак активног метаболита витамина D [$1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$], хипокалциемија и хиперфосфатемије, а његове главне клиничке последице су: болести коштаног система (ренална остеодинстрофија), кардиоваскуларне болести (васкуларна и валвуларна калцификација) и развој резистенције на дејство еритропоетина [64]. Високе вредности паратхормона повећавају резистенцију на дејство еритропоетина својим директним и индиректним токсичним дејством. У директна токсична дејства спадају блокада секреције ендогеног еритропоетина, блокада пролиферације и диференцијације ћелија прекурсора еритроцитне лозе и скраћен животни век еритроцита, а у индиректно дејство спада фиброза костне сржи – OF (енгл. Osteitis Fibrosa). Оптимална контрола секундарног хиперпаратиреозидизма (примена

парикалцитрола и цинакалцета) знатно смањује резистенције на дејство еритропоетина [64].

Резистенција на дејство еритропоетина може бити и последица постојања анти-ЕРО-антитела. Као последица стварања анти-ЕРО-антитела може се јавити синдром аплазије прекурсора еритроцита у костној сржи – PRCA (енгл. Pure Red-Cell Aplasia) [65]. Дијагноза се поставља на основу биопсије костне сржи, одређивањем броја ретикулоцита и мерењем концентрације анти-ЕРО-антитела. У одсуству прекурсора еритроцитне лозе у костној сржи, с бројем ретикулоцита мањим од $10 \times 10^9/l$, треба измерити концентрацију анти-ЕРО-антитела [65]. Лечење се спроводи обустављањем употребе еритропоетина, примену трансфузија деплазматисаних еритроцита (1 јединица недељно), као и применом кортикостероида и имуносупресива (циклоспорин, циклофосфамид) [65].

2.6.3. Утицај модалитета дијализе на резистенцију на дејство еритропоетина

On-line хемодијафилтрација смањује резистенцију на дејство еритропоетина. То омогућава повећано уклањање хепцидина у току сеансе хемодијафилтрације [66]. On-line хемодијафилтрација смањује микроинфламацију, оксидациони стрес и концентрацију хепцидина у серуму, као и смањење концентрацију β_2 -микроглобулина [66].

2.7. β_2 -микроглобулин амилоидоза

У хроничној болести бубрега, с прогресивним смањењем бубрежне функције расте концентрација уремијских токсина у серуму. Бета-2-микроглобулин (β_2M) јесте супстанција средње молекулске масе растворљива у води, која је повезана с амилоидозом – DRA (енгл. Dialysis-Related Amyloidosis) и морталитетом [67, 68]. DRA је дугорочна компликација код пацијената који се лече редовном хемодијализом, која отежава свакодневне животне активности – ADL (енгл. Activities of Daily Living) и квалитет живота ових болесника – QOL (енгл. Quality of Life) [67, 68].

2.7.1. Патогенеза амилоидозе повезане с хемодијализом

Амилоидоза повезана с хемодијализом настаје као последица накупљања β_2 -микроглобулина [67, 68]. Влакна амилоида повезана са β_2 -микроглобулином се стварају и примарно депонују у зглобовима (остеоартикуларном ткиву), што за последицу има развој различитих остеоартикуларних поремећаја, као што су синдром карпалног тунела, деструктивна спондилоартропатија и цисте у костима код дијализних болесника [67, 68]. Амилоидна влакна настају у интеракцији β_2 -микроглобулина и других биолошких молекула (гликозаминогликани, протеоглици, аполипопротеин Е, инварини). У додиру с другим биолошким молекулима долази до конформационих промена (промена у грађи β_2 -микроглобулина (стварају се влакна амилоида од β_2 -микроглобулина), схема 6 [67, 68].

Схема 6. Патогенеза амилоидозе повезане с дијализом



2.7.2. Клиничка слика

Повећана концентрација β_2 -микроглобулина у серуму (30–50 mg/l) не значи и истовремено постојање амилоидозе повезане с хемодијализом (нормална концентрација β_2 -микроглобулина у серуму износи 0.8–3.0 mg/l). Златни стандард за дијагностиковање амилоидозе јесте биопсија ткива. Клиничко испољавање болести зависи од захваћених зглобова и висцералних органа. Најчешће су захваћени скапулохумерални зглобови и кости шаке (синдром карпалног тунела). Код болесника са синдромом карпалног тунела карактеристичан је „знак гитаре”, који настаје као последица скраћивања тетива флексора прстију [67, 68].

2.7.3. Лечење

On-line хемодијафилтрација са high-flux мембранама уклања уремијске токсине средње молекулске масе у значајној количини. Терапијска стратегија укључује: очување резидуалне реналне функције, блокирање стварања уремијских токсина, превенцију интеракција између уремијских токсина и биолошких молекула и уклањање уремијских токсина медикаментима или терапијом за вантелесно чишћење крви [67, 68].

2.8. Атеросклероза

Оксидациони стрес, микроинфламација и хиперхомоцистеинемија имају значајну улогу у развоју атеросклерозе код пацијената са редовном хемодијализом. Хиперхомоцистеинемија се дефинише као концентрисаност хомоцистеина у плазми $> 15 \mu\text{mol/l}$, а настаје као последица смањене активности ензима кључних у метаболизму хомоцистеина, као што су редуктаза 5-метил-тетрахидрофолата, синтаза метионина и β -синтаза цистатиона. Смањена активност тих ензима последица је недостатка витамина B_6 , B_{12} и фолне киселине, који служе као кофактори поменутих ензима [69]. Повећана концентрација хомоцистеина, оксидациони стрес (супероксидни анјон) и

микроинфламација блокирају активност ензима диметил-диамино-хидролазе – DDHA (енгл. Dimethyl-Diamino-Hydrolase) у ендотелним ћелијама крвних судова, који разграђује асиметрични диметиларгинин – ADMA (енгл. Asymmetric Dimethylarginine) до L-цитрулина и метионина. Асиметрични диметиларгинин је најзначајнији ендогени блокатор синтезе азотног монооксида, а смањено стварање азотног монооксида у ендотелним ћелијама има кључну улогу у започињању процеса атеросклерозе [69]. Додатно, супероксидни анјон оксидише тетрахидробиоптерин (ендогени кофактор синтезе NO) и на тај начин доприноси убрзању процеса атеросклерозе. Поремећај функције ендотела има кључну улогу у патогенези атеросклеротских кардиоваскуларних болести у популацији пацијената који примењују лечење редовном хемодијализом.

Лечење хиперхомоцистеинемije састоји се из примене фолне киселине у дози 5–15 mg/дан, витамина B₁₂ у дози од 1000 µg/дневно и витамин B₆ у дози 50 mg/дневно [69]. Резултати клиничких испитивања указују на статистички значајну позитивну повезаност између концентрације асиметричног диметиларгинина и дебљине интима-медија каротидних артерија [70].

Атеросклероза каротидних артерија дефинише се као дебљина интима-медија (IMT) > 0.90 mm, измерена ултразвучним прегледом каротидних артерија. На основу колор доплер ултрасонографије, атеросклеротска болест каротидних артерија класификује се у четири стадијума: стадијум I: IMT ≤ 0.9 mm, градус II: IMT > 0.9 mm, стадијум III: присуство атеросклеротских плакова са стенозом једнаком или мањом од 50% (≤ 50%) и стадијум IV: присуство атеросклеротских плакова са стенозом већом од 50%. Присуство плака дефинише се као структура која проминира у лумен каротидне артерије најмање 0.5 mm [71].

3. ЦИЉ

Циљеви докторске дисертације:

1. испитати утицај модалитета дијализе на параметре оксидационог стреса,
2. испитати утицај типа дијализне мембране на параметре оксидационог стреса,
3. испитати утицај дијализне мембране обложене витамином Е на оксидациони стрес,
4. испитати утицај адекватности хемодијализе на параметре оксидационог стреса,
5. испитати утицај анемије на параметре оксидационог стреса,
6. испитати степен повезаности између оксидационог стреса и микроинфламације,
7. испитати степен повезаности између оксидационог стреса и витамина D,
8. испитати степен повезаности између оксидационог стреса и нутриције,
9. испитати степен повезаности између оксидационог стреса и статуса гвожђа,
10. испитати утицај дозе i.v. примењеног гвожђа на параметре оксидационог стреса,
11. испитати степен повезаности између параметара оксидационог стреса и индекса резистенције на дејство еритропоетина,
12. испитати степен повезаности између параметара оксидационог стреса и дебљине интима-медија каротидних артерија.

4. БОЛЕСНИЦИ И МЕТОДЕ

Истраживање је спроведено у Центру за нефрологију и дијализу КЦ Крагујевац, учествовало је 125 болесника који се тамо лече. Током истраживања поштовани су принципи Хелсиншке декларација. Употребљена је редовна бикарбонатна хемодијализа и on-line хемодијафилтрација, дванест сати током седам дана, дуже од три месеца, на апаратима са контролисаном ултрафилтрацијом код свих лечених испитиваних болесника. Просечна стопа протока крви износила је 222.80 ($Q_b = 222.80 \pm 25.89$), а раствора за дијализу – $Q_d = 500$ ml/min. Хемодијафилтрација која је била on-line коришћена је дијализна високопроточна мембрана, која је обложена витамином Е – Leoseed 21Н (полисулфонска мембрана ефективне површине 2.1 m², $K_oA = 1351$ ml/min, high-flux – $K_{uf} = 88$ ml/h x mmHg, а гама зрацима стерилисана, Asachi Kasei Medical Europe, Germany) и високопроточна дијализна мембрана која није била обложена витамином Е – FX800 (полисулфонска мембрана ефективне површине 2.0 m², $K_oA = 1365$ ml/min, high-flux – $K_{uf} = 62$ ml/h x mmHg, стерилисана воденом паром, Fresenius Medical Care, Germany). Током дијализе коришћен је стандардни ултрачист раствор за on-line хемодијафилтрацију (концентрација ендотоксина – $E < 0.03$ EU/ml), а по сесији конвективни волумен је износио 17 литара. Нису били укључени у испитивање болесници са доказаним активним крварењем, системском инфламацијом или инфективним синдромом, са малигним болестима, као ни болеснике који су лечени имunosупресивним и антиоксидационим медикаментима.

Испитивање процене утицаја дијализне мембране која је обложена витамином Е на оксидациони стрес у току појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације, параметри који су испитивани су: анемије (еритроцитни индекси, хемоглобин, хематокрит), статус гвожђа у организму болесника (концентрација гвожђа и феритина у серуму, zasiћење трансферина гвожђем), микроинфламације (С-реактивни протеин), процена нутритивног статуса (преалбумин, трансферин), секундарног хиперпаратиреоидизма (iPTH, витамин D), оксидационог стреса [супероксидни ањон (O_2^-), водоник-пероксид (H_2O_2), реактивне супстанције везане за тиобарбитуричну киселину (TBARS), азотни моноксид (NO), супероксид димутаза (SOD), каталаза (C), активност редукованог глутатиона (GSH)], дебљина интима-медија каротидних артерија, проток крви кроз васкуларни приступ за хемодијализу (Q_{avf}) и параметар адекватности дијализе ($spKt/V$).

4.1 Лабораторијска испитивања

За одређивање лабораторијских анализа крви је крв је узоркована пре и након појединачне on-line хемодијафилтрације, пре давања хепарина и пре примене i.v. гвожђа, као и витамина В комплекса, на крају сесије on-line хемодијафилтрације. Код истих болесника, на исти начин узорак крви узет је пре и на крају појединачне сесије on-line хемодијафилтрације с high-flux полисулфонском мембраном типа Leocseed 21Н и типа FX800. Лабораторијске анализе су узимане рутински, приказане су као средња вредност три узорка за три наредна месеца.

Феритин је урађен на апарату В С АУ680. Ц-реактивни протеин на апарату Olympus. Концентрација преалбумина и трансферина у серуму је одређивана имунотурбидиметријском методом, на апарату Abbott Architect. Болесници на редовним хемодијализама имају нормална концентрација преалбумина у серуму $\geq 0.30 \text{ g/l}$ ($\geq 30 \text{ mg/dl}$).

Витамин D у серуму мерен је помоћу електро-хемилуминисценције, на Cobase 411. Интактни паратхормон одређен имуно-радиометријском методом, на G бројачу WALL. W 1470.

Принцип одређивања концентрације супероксидног анјона (O_2^-) у узорцима крвне плазме користи реакцију O_2^- с нитротетразолијум плавим (Nitro Blue Tetrazolium – NBT) до нитроформазама плавог. Мерење се одвија на таласној дужини $\lambda = 550 \text{ nm}$.

Метод одређивања концентрације водоник-пероксида (N_2O_2) базира се на оксидацији фенол црвеног помоћу водоник-пероксид реакције, коју катализује ензим пероксидаза из коњске ротквице (Horse Radish Peroxidase – HRPO). Финални резултат те реакције јесте формирање једињења с максимумом апсорпције $\lambda_{\text{max}} = 610 \text{ nm}$.

Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS) реализовано је индиректно преко продуката реакције липидне пероксидације с тиобарбитурном киселином, (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Принцип те методе заснива се на одређивању нивоа липидних пероксида на основу реакције једног од њих, малонилдиалдехида (MDA) с тиобарбитурном киселином (ТВА). Мерење се одвија на таласној дужини $\lambda = 530 \text{ nm}$.

Одређивање концентрације азот-монооксида (NO) реализовано је на основу количине ослобођених нитрита. Принцип те методе подразумева коришћење Griess-

реагенса, који с нитритима гради диазо-комплекс, који даје љубичасту боју. Мерење се одвија на таласној дужини $\lambda = 550 \text{ nm}$.

За одређивање активности SOD коришћена је адреналинска метода. Принцип те методе, која иначе припада групи метода „негативног” типа, подразумева да се прати смањење брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која је зависна од O_2^- . С обзиром да се O_2^- уклања од стране присутне SOD, долази до инхибиције реакције аутооксидације адреналина. Систем прати брзину промене аутооксидације адреналина преко промене апсорбанце на 480 nm , која је обрнуто пропорционална активности SOD.

За одређивање активности каталазе коришћена је метода по Beutler-у. Принцип методе је спектрофотометријско праћење брзине разградње водоник-пероксида у присуству каталазе на таласној дужини 230 nm , при којој водоник-пероксид апсорбује светлост.

За одређивање активности редукованог глутатиона (GSH) коришћена је спектрофотометријска метода по Beutler-у. Принцип методе базира се на оксидацији глутатиона GSH помоћу 5.5-дитио-бис-6.2-нитробензоевом киселином (DTNB).

Индекс резистенције на дејство краткоделујућих еритропоетина – ERI израчунат је помоћу формуле: $\text{ERI (IU/kg/gHb)} = [\text{недељна доза еритропоетина (IU)} / \text{телесне масе болесника (kg)} / \text{концентрација хемоглобина у крви (g/l)}]$. Резистенција на дејство краткоделујућих еритропоетина постоји ако је $\text{ERI} \geq 1.0 \text{ IU/kg/gHb}$. Индекс резистенције на дејство дугоделујућег еритропоетина израчунат је на основу формуле: $\text{ERI} (\mu\text{g/kg/gHb}) = [\text{недељна доза еритропоетина} (\mu\text{g}) / \text{телесне масе болесника (kg)} / \text{концентрација хемоглобина у крви (g/l)}]$. Резистенција на дејство дугоделујућег еритропоетина постоји уколико је $\text{ERI} \geq 0.005 \mu\text{g/kg/gHb}$. Према индексу резистенције на дејство еритропоетина, болесници су подељени у две групе. Прво место заузели су пацијенти код којих је утврђено постојање резистенције на дејство еритропоетина, док су другу чинили они код којих није утврђена резистенција на дејство еритропоетина.

4.2. Ултрасонографија- Колор доплер

Одређивање протока крви кроз васкуларни приступ – Q_{avf} вршено је Color Doppler ултразвучним прегледом, на апарату Logic P5, примном сонде од 7.5 MHz .

Дебљина интима-медија каротидних артерија изражена је као просечна вредност три појединачна мерења на десној и левој каротидној артерији. Мерења су вршена 1–2

ст испод бифуркације каротидних артерија од стране истог ултрасонографисте. Вредност мања од 0.9мм се дефинише као нормална дебљина интима-медије.

4.3. Статистичка анализа

За обраду резултата примењени су: Kolmogo. Smirnov , Studentov T тест за везане узорке, Wilcoxon-ов, Studentov T тест за неvezане узорке и Mann-Whytney U тест, Spearman-ов тест корелације, Pearson-ов тест корелације, униваријантна и мултиваријантна логистичка регресиона анализа.

5. РЕЗУЛТАТИ РАДА

Испитивање је обухватило 24 пацијента која се лече on-line хемодијафилтрацијом (19 мушкараца, 5 жена), просечне старости 60.92 ± 8.20 година, просечне дужине лечења дијализом 9.53 ± 5.45 год. и адекватности хемодијализе $spKt/V 1.20 \pm 0.18$.(таб. 1).

За лечење анемије болесника који су укључени у испитивање, примењен је стимулатор еритропоезе, са кратким и дугим дејством, интравенски препарат гвожђа, витамина В и фолна кис. (per os). Просечна месечна доза краткоделујућег еритропоетина износила је 18000.00 ± 12055.43 IU, дугоделујућег еритропоетина 140.00 ± 36.33 μ g, просечна месечна доза интравенског гвожђа износила је 256.25 ± 131.50 mg, просечна месечна доза витамина В₁₂ 2916.67 ± 1592.56 μ g, а просечна месечна доза фолне киселине 181.25 ± 62.23 mg. Секундарни хиперпаратиреоидизам ових болесника лечен је везачима фосфата који садрже калцијум, активним метаболитима витамина D и парикалцитолом. Просечна месечна доза рокалтрола износила је 3.08 ± 5.10 μ g, а i.v. парикалцитола 2.50 ± 12.25 μ g.

Табела 1. Општи подаци о болесницима

		Xsr ± SD
Број (n)		24
Однос полова (м - ж, %)		19/5 (79.17%/20.83%)
Старост (год.)		60.92 ± 8.20
Године на дијализи		9.53 ± 5.45
Телесна маса – ИТМ (kg/m ²)		25.63 ± 3.53
Систолни артеријски крвни притисак – СТА (mmHg)		131.67 ± 13.73
Дијастолни артеријски крвни притисак – ДТА (mmHg)		77.50 ± 6.76
Средњи артеријски крвни притисак – SAP (mmHg)		95.56 ± 8.49
Сува телесна маса болесника – W (kg)		74.21 ± 12.69
Интердијализни принос у ТМ – IDWG (kg)		2.33 ± 0.92
Интердијализни принос у ТМ – IDWG (%)		3.22 ± 1.32
Јачина ултрафилтрације – UFR (ml/kg/h)		8.04 ± 3.30
Јачина ултрафилтрације – UF (ml/h)		583.33 ± 229.21
Резидуална диуреза – RD (mL / 24 h)		425.00 ± 591.98
Проток крви кроз васкуларни приступ – Qavf (ml/min)		967.08 ± 415.62
Индекс адекватности хемодијализе – spKt/V		1.20 ± 0.18
Примарна болест бубрега	Glomerulonephritis chronica	3 (12.5%)
	Nephropathia hypertensiva	10 (41.66%)
	Nephropathia diabetica	1 (4.16%)
	Nephropathia obstructiva	1 (4.16%)
	Nephropathia chronica	4 (16.67%)
	Renes polycystici	5 (20.83%)
Коморбидитети		
Хипертензија		22 (91.66%)
Хипотензија		1 (4.17%)
Diabetes mellitus		1 (4.17%)

Добијене просечне вредности параметара анемије, статуса гвожђа, микроинламације, нутритивног статуса, секундарног хиперпаратиреоидизма и ултразвучног прегледа каротидних артерија приказани су у табели 2.

Табела 2. Основни параметри испитивања

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	Статистички параметри
	Xsr ± SD
Хемоглобин – Hb (g/l)	105.88 ± 14.56
Хематокрит – Hct (%)	32.09 ± 4.47
Просечне запремине еритроцит – MCV (fl)	93.74 ± 4.86
Средња концентрација хемог. – MCHC (g/l)	329.50 ± 6.53
Концентрација витамина B ₁₂ у серуму – VitB ₁₂ (pg/ml)	962.33 ± 503.24
Концентрација фолне киселине у серуму – FOL (ng/ml)	20.42 ± 13.16
Концентрација гвожђа у серуму – Fe ²⁺ (μmol/l)	9.62 ± 4.04
Засићење трансферина гвожђем – TSAT (%)	24.46 ± 9.77
Феритин – F (ng/ml)	591.96 ± 318.31
С-реактивни протеин – CRP (mg/l)	6.08 ± 6.74
Албумин – Alb (g/l)	37.96 ± 3.24
Концентрација преалбумина у серуму – Palb (g/l)	0.29 ± 0.08
Концентрација трансферина у серуму – Trsf (g/l)	1.57 ± 0.28
D витамин – VitD (ng/ml)	20.16 ± 9.69
Паратхормон – PTH (pg/ml)	228.92 ± 287.42
Просечна дебљина интима-медија ДКА – ИМТ (mm)	1.21 ± 0.24
Просечна дебљина интима-медија LKA - ИМТ (mm)	1.19 ± 0.26
Просечна дебљина интима-медија КА – ИМТ (mm)	1.20 ± 0.23

Ради процене утицаја типа дијализне мембране на оксидациони стрес у току појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације испитивани су: супероксидни анијон (O₂⁻), водоник-пероксид (H₂O₂), реактивне супстанције везане за тиобарбитуричну киселину (TBARS), азотни моноксид (NO), супероксид дизмутаза (SOD), каталаза (CAT) и активност редукованог глутатиона (GSH), табела 3.

Болесници који су лечени on-line хемодијафилтрацијом имају статистички значајну (p < 0.05) мању концентрацију реактивних супстанција везаних за тиобарбитуричну киселину (TBARS) и високо статистички значајно (p < 0.01) мању активност супероксид дизмутазе (SOD), након завршетка сеансе on-line хемодијафилтрације с мембраном обложеном витамином Е (Leoseed 21H), табела 3. Код истих болесника, након појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације с мембраном која није обложена витамином Е (FX800), концентрација водоник-пероксида (H₂O₂) у серуму је статистички значајно (p < 0.05) већа, док је активност супероксид дизмутазе високо статистички значајно (p < 0.01) мања од вредности пре сеансе on-line хемодијафилтрације, табела 3. Између осталих параметара оксидационог стреса нема

статистички значајне разлике ($p > 0.05$) пре и после сенасе on-line хемодијафилтрације с мембраном која је обложена витамином Е (Leoseed 21H), као ни с мембраном која није обложена витамином Е (FX800), табела 3.

Табела 3. Утицај типа дијализне мембране на оксидациони стрес у току појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације

Параметри испитивања	Мембрана за on-line хемодијафилтрацију					
	Leoseed 21H		P	FX800		P
	пре HDF	после HDF		пре HDF	после HDF	
O_2^-	3.45 ± 3.51	1.87 ± 2.06	0.078	1.96 ± 1.23	1.83 ± 1.14	0.548
H_2O_2	4.82 ± 1.99	4.74 ± 1.56	0.878	7.14 ± 1.72	7.95 ± 1.54	0.003
TBARS	1.20 ± 0.26	1.07 ± 0.10	0.031	0.88 ± 0.15	0.90 ± 0.24	0.567
NO	3.65 ± 1.24	3.34 ± 0.80	0.223	7.79 ± 2.29	8.09 ± 2.00	0.174
SOD	37.99 ± 27.12	19.33 ± 11.46	0.003	27.13 ± 13.72	18.66 ± 11.38	0.010
CAT	2.38 ± 1.51	1.86 ± 1.28	0.107	1.79 ± 1.23	2.15 ± 1.52	0.626
GSH	110615.52 ± 27561.68	106438.65 ± 32204.63	0.992	90988.86 ± 14909.96	92846.14 ± 12470.16	0.364

O_2^- – супероксидни ањон (nmol/ml), H_2O_2 – водоник-пероксид (nmol/ml), TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитуричну киселину ($\mu\text{mol/l}$), SOD – супероксид дизмутаза ($\text{U/gHb} \times 10^3$), CAT – каталаза ($\text{U/gHb} \times 10^3$), GSH – редуковани глутатион ($\text{U/gHb} \times 10^3$)

Сprovedена је терапија редовне хемодијализе и on-line хемодијафилтрације у периоду више од деведесет дана. Укључено је 125 испитаника (78 мушког, 47 женског пола), у добу од 62.83 ± 10.49 година, дужина трајања хемодијализе 6.51 ± 6.12 година, просечне ухрањености $25.86 \pm 4.60 \text{ kg/m}^2$ и индекса адекватности дијализе $\text{spKt/V} 1.24 \pm 0.29$, табели 4.

Табела 4. Општи подаци о болесницима

		Xsr ± SD
Број (N)		125
Пол (м/ж, %)		78/47 (62.40%/37.60%)
Старост (год.)		62.83 ± 10.49
Дужина лечења хемодијализом (год.)		6.51 ± 6.12
Индекс телесне масе – ИТМ (kg/m ²)		25.86 ± 4.60
Систолни артеријски крвни притисак – STA (mmHg)		127.64 ± 15.77
Дијастолни артеријски крвни притисак – DTA (mmHg)		76.16 ± 7.49
Средњи артеријски крвни притисак – SAP (mmHg)		93.32 ± 9.54
Сува телесна маса болесника – W (kg)		72.02 ± 14.70
Интердијализни принос у ТМ – IDWG (kg)		2.44 ± 1.11
Процент интердијализног приноса у ТМ – IDWG (%)		3.45 ± 1.58
Јачина ултрафилтрације – UFR (ml/kg/h)		8.64 ± 3.94
Јачина ултрафилтрације – UF (ml/h)		610.93 ± 275.26
Резидуална диуреза – RD (ml/24h)		652.40 ± 683.40
Проток крви кроз васкуларни приступ – Qavf (ml/min)		845.60 ± 433.35
Индекс адекватности хемодијализе – Kt/V		1.10 ± 0.24
Single pool индекс адекватности хемодијализе – spKt/V		1.24 ± 0.29
Степен умањења уреје – URR (%)		63.87 ± 8.62
Примарна болест бубрега	Glomerulonephritis chronica (N, %)	11 (8.80%)
	Nephropathia hypertensiva (N, %)	40 (32.00%)
	Nephropathia diabetica (N, %)	19 (15.20%)
	Nephropathia obstructiva (N, %)	8 (6.40%)
	Nephropathia chronica (N, %)	27 (21.60%)
	Renes polycystici (N, %)	20 (16.00%)
Коморбидитети		
Hypertensio arterialis (N, %)		75 (60.00%)
Cor hypertensivum compensatum (N, %)		20 (16.00%)
Cardiomyopathia dilatativa (N, %)		5 (4.00%)
Hypotensio arterialis (N, %)		5 (4.00%)
Diabetes mellitus complicatus (N, %)		20 (16.00%)

Просечна месечна доза краткоделујућег еритропоетина износила је 20538.46 ± 10716.42 IU, дугоделујућег еритропоетина 134.89 ± 71.88 µg, просечна месечна доза интравенског гвожђа износила је 273.91 ± 162.38 mg, просечна месечна доза i.v. витамина C износила је 1420.00 ± 184.04 mg, просечан месечни број ампула Beviplex-а износио је 11.36 ± 1.47, просечна месечна доза витамина B₁₂ 3060 ± 1874.70 µg, а просечна месечна доза фолне киселине 187.20 ± 65.04 mg. Секундарни хиперпаратиреоидизам испитиваних болесника лечен је везачима фосфата који садрже

калцијум, активним метаболитима витамина D и парикалцитолом. Просечна месечна доза рокалтрола износила је $5.43.56 \pm 4.00 \mu\text{g}$, а i.v. парикалцитола $37.504 \pm 17.08 \mu\text{g}$. Лечење артеријске хипертензије код 81 болесника (64.80%) применом блокатора ренин-ангиотензин система (углавном блокаторе конвертазе ангиотензина 1), 62 болесника (49.60%) бета блокаторима, 46 болесника (36.80%) диуретицима Хенлеове петље и 44 болесника (35.20%) блокаторима калцијумских канала.

Стандардном интермитентном high-flux хемодијализом лечен је 101 болесник (80.80%), а 24 болесника (19.20%) лечена су постдилуционом on-line хемодијафилтрацијом. За лечење постдилуционом on-line хемодијафилтрацијом, код 24 болесника (19.20%) коришћени су дијализатори с високопроточном полисулфонском мембраном површине 2.0–2.4 m², док су остали болесници (101 болесник, 80.80%) лечени high-flux хемодијализом коришћењем дијализатора с високопроточном полисулфонском мембраном површине 1.4–1.8 m². Код 113 болесника (90.40%) користио се раствор за хемодијализу с концентрацијом калцијума 1.75 mmol/l (PGS21), код девет болесника (7.20%) концентрација калцијума у раствору за хемодијализу била је 1.50 mmol/l (PGS25), а само код три болесника (2.40%) користио се раствор с концентрацијом калцијума 1.25 mmol/l (PGS27). Концентрација натријума Na⁺ у раствору за хемодијализу износила је 140 mmol/l, бикарбоната 35 mmol/l, а концентрација K⁺ 2.0 mmol/l.

Просечне вредности параметара анемије, статуса гвожђа, микроинфламације, нутритивног статуса, секундарног хиперпаратиреоидизма и ултразвучног прегледа каротидних артерија приказане су у табели 5. Ради процене утицаја оксидационог стреса на атеросклерозу каротидних артерија испитивани су: супероксидни анјон (O₂⁻), водоник-пероксид (H₂O₂), супстанције које реагују с тиобарбитурном киселином (TBARS), азотни моноксид (NO₂⁻), супероксид дизмутаза (SOD), каталаза (CAT), активност редукованог глутатиона (GSH) и дебљина интима-медија каротидних артерија, приказ у табели 5.

Табела 5. Просечне вредности испитиваних параметара

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	Статистички параметри
	Xsr ± SD
Хемоглобин – Hb (g/l)	104.05 ± 12.28
Хематокрит – Hct (%)	31.52 ± 3.83
запремина еритроцита – MCV (fl)	93.89 ± 4.51
хемоглобин у еритроциту – MCH (pg)	30.98 ± 1.62
Средња концентрација хемоглобина у еритроциту - MCHC (g/l)	329.96 ± 5.09
Концентрација витамина B ₁₂ у серуму – VitB12 (pg/ml)	999.78 ± 516.38
Концентрација фолне киселине у серуму – FOL (ng/ml)	22.48 ± 11.49
Концентрација гвожђа у серуму – Fe ²⁺ (μmol/l)	10.05 ± 4.16
Засићење трансферина гвожђем – TSAT (%)	28.30 ± 11.48
Концентрација феритина у серуму – F (ng/ml)	745.50 ± 344.60
Концентрација С-реактивног протеина у серуму – CRP (mg/l)	10.57 ± 12.23
Концентрација укупних протеина у серуму – P (g/l)	64.36 ± 4.66
Концентрација албумина у серуму – Alb (g/l)	38.10 ± 3.03
Концентрација преалбумина у серуму – Palb (g/l)	0.28 ± 0.09
Концентрација трансферина у серуму – Trsf (g/l)	1.56 ± 0.34
Концентрација мокраћне киселине у серуму – UA (μmol/l)	366.92 ± 59.06
Нормализовани степен разградње протеина – nPCR (g/kg/dan)	1.76 ± 0.66
Концентрација витамина D у серуму – VitD (ng/ml)	17.88 ± 9.63
Концентрација интактног паратхормона у серуму – iPTH (pg/ml)	175.13 ± 199.85
Просечна дебљина интима-медија ДКА – ИМТ (mm)	1.24 ± 0.29
Просечна дебљина интима-медија ЛКА – ИМТ (mm)	1.27 ± 0.31
Просечна дебљина интима-медија КА – ИМТ (mm)	1.25 ± 0.28
Концентрација супероксидног анјона у серуму – O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.58 ± 4.90
Концентрација водоник-пероксида у серуму – H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.65 ± 1.62
Концентрација TBARS-а у серуму (μmol/ml)	1.14 ± 0.23
Концентрација нитрита у серуму – NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.81 ± 1.33
Активност редукованог глутатиона у серуму – GSH (nmol/ml)	119500.29 ± 17525.20
Активност каталазе у еритроцитима – CAT (U/gHbx10 ⁴)	2.22 ± 1.88
Активност супероксид дизмутазе у еритроцитима – SOD (U/gHbx10 ⁴)	32.82 ± 20.67

TBARS – супстанције које реагују с тиобарбитурном киселином (μmol/ml), ДКА – десна каротидна артерија, ЛКА – лева каротидна артерија, КА – каротидна артерија

Између концентрације H_2O_2 у серуму и дебљине интима-медија каротидних артерија постоји статистички значајна ($p < 0.05$) позитивна повезаност. Високо статистички значајна ($p < 0.01$) позитивна повезаност утврђена је између концентрације TBARS-а у серуму и дебљине интима-медија каротидних артерија, док је високо статистички значајна ($p < 0.01$) негативна повезаност утврђена између концентрације SOD у серуму и дебљине интима-медија каротидних артерија, табела 6. Између концентрације преалбумина и албумина у серуму постоји високо статистички значајна ($p < 0.01$) позитивна повезаност. Високо статистички значајна ($p < 0.01$) негативна повезаност утврђена је између концентрације албумина и преалбумина у серуму и дебљине интима-медија каротидних артерија, табела 6. Између осталих испитиваних параметара и дебљине интима-медија каротидних артерија није утврђена статистички значајна повезаност, табела 6.

Табела 6. Повезаност између параметара оксидационог стреса, микроинфламације, нутриције, секундарног хиперпаратиреоидизма и дебљине интима-медија каротидних артерија

Параметри испитивања	Основни статистички параметри		Значајност (p)
	Xsr ± SD	N	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.58 ± 4.90	125	r _{emp} = 0.002 p = 0.984
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.65 ± 1.62	125	r _{emp} = 0.190 p = 0.034
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
TBARS (μmol/ml)	1.14 ± 0.23	125	r _{emp} = 0.550 p = 0.0001
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.81 ± 1.33	125	r _{emp} = -0.131 p = 0.144
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
GSH (nmol/ml)	119500.29 ± 17525.20	125	r _{emp} = 0.112 p = 0.214
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
CAT (U/gHbx10 ⁴)	2.22 ± 1.88	125	r _{emp} = 0.04 p = 0.963
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
SOD (U/gHbx10 ⁴)	32.82 ± 20.67	125	r _{emp} = -0.310 p = 0.0001
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
CRP (mg/l)	10.57 ± 12.23	125	r _{emp} = 0.038 p = 0.673
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
ALB (g/l)	38.00 ± 3.02	125	r _{emp} = -0.245 p = 0.006
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
PALB (g/l)	0.28 ± 0.09	125	r _{emp} = -0.243 p = 0.009
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
TRSF (g/l)	1.50 ± 0.34	125	r _{emp} = -0.139 p = 0.123
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
VitD (ng/ml)	17.88 ± 9.63	125	r _{emp} = -0.148 p = 0.099
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
iPTH (pg/ml)	175.13 ± 199.85	125	r _{emp} = 0.051 p = 0.574
IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
ALB (g/l)	38.00 ± 3.02	125	r _{emp} = 0.479 p = 0.0001
PALB (g/l)	0.28 ± 0.09		

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид дизмутаза, CRP – С-реактивни протеин, ALB – албумин, PALB – преалбумин, TRSF – трансферин, VitD – витамин D, iPTH – интактни паратхормон, IMT – дебљина интима-медија

Испитивање је извршено код 96 болесника (58 мушкараца, 38 жена), просечне старости 62.57 ± 11.05 година, просечне дужине лечења дијализом 4.46 ± 5.22 године, просечне ухрањености $25.84 \pm 4.93 \text{ kg/m}^2$ и просечног индекса адекватности хемодијализе $\text{spKt/V } 1.20 \pm 0.28$ (табела 7а.).

Према врсти еритропоетина, добили смо две групе. Прву су чинили болесници код којих се за лечење анемије примењивао краткоделујући еритропоетин (епоедин- α , епоетин- β), док су другу чинили болесници с дугоделујућим еритропоетином (дарбепоетин- α) - табела 7б.

Према индексу резистенције на дејство еритропоетина, свака група болесника подељена је на још две погрупе. Прву подгрупу чинили су болесници код којих је дијагностикована резистенција на дејство еритропоетина, док су другу чинили болесници без резистенције на дејство еритропоетина. Општи подаци о болесницима приказани су у табели 7в.

Табела 7а. Болесници – опште карактеристике

		Xsr ± SD
Број (n)		96
Процент заступљености полова		58/38 (60.42/39.58)
Године старости		62.57 ± 11.05
Године проведене на хемодијализном програму		4.46 ± 5.22
Телесна маса приказана кроз индекс		25.84 ± 4.93
Систолни артеријски крвни притисак – STA (mmHg)		128.44 ± 15.83
Дијастолни артеријски крвни притисак – DTA (mmHg)		76.35 ± 7.56
Средњи артеријски крвни притисак – SAP (mmHg)		93.72 ± 9.56
Сува телесна маса болесника – W (kg)		71.63 ± 14.68
Интердијализни принос у ТМ – IDWG (kg)		2.39 ± 1.10
Процент интердијализног приноса у ТМ – IDWG (%)		3.38 ± 1.53
Јачина ултрафилтрације – UF (ml/h)		598.09 ± 275.06
Јачина ултрафилтрације – UFR (ml/kg/h)		8.46 ± 3.82
Резидуална диуреза – RD (ml/24h)		698.44 ± 701.82
Јачина протока кроз васкуларни приступ		827.29 ± 441.21
Адекватност хемодијализе - индекс		1.01 ± 0.23
Single pool индекс адекватности хемодијализе		1.20 ± 0.28
умањења уреа - степен – URR (%)		62.62 ± 8.54
Примарна болест бубрега	GMN (N, %)	8 (8.33)
	Nephropathia hypertensiva (N, %)	28 (29.17)
	Nephropathia diabetica (N, %)	18 (18.75)
	Nephropathia obstructiva (N, %)	6 (6.25)
	Nephropathia chronica (N, %)	24 (25.00)
	Renes polycystici (N, %)	12 (12.50)
Коморбидитети		
Hypertensio arterialis (N, %)		58 (60.42)
Cor hypertensivum compensatum (N, %)		16 (16.67)
Cardiomyopathia dilatativa (N, %)		2 (2.08)
Hypotensio arterialis (N, %)		2 (2.08)
Diabetes mellitus complicatus (N, %)		18 (18.75)

Табела 76. Општи подаци о болесницима у зависности од врсте еритропоетина

ОПШТИ ПОДАЦИ	ВРСТА ЕРИТРОПОЕТИНА	
	KDE	DDE
	X _{sr} ± SD	X _{sr} ± SD
N (%)	51 (53.13)	45 (46.87)
P (м/ж, %)	31/20 (60.78/39.22)	27/18 (60.00/40.00)
S (год.)	67.45 ± 9.11	57.04 ± 10.51
DD (год.)	5.16 ± 6.00	3.68 ± 4.10
BMI (kg/m ²)	25.69 ± 4.55	26.01 ± 5.37
SBP (mmHg)	127.16 ± 16.32	129.89 ± 15.32
DBP (mmHg)	75.88 ± 7.53	76.89 ± 7.63
MBP (mmHg)	92.97 ± 9.74	94.56 ± 9.39
WG (kg)	71.03 ± 13.76	72.31 ± 15.79
IDWG (kg)	2.24 ± 0.91	2.57 ± 1.28
%IDWG (%)	3.20 ± 1.31	3.59 ± 1.75
UF (ml/h)	558.82 ± 226.87	642.59 ± 317.88
UFR (ml/kg/h)	8.00 ± 3.27	8.98 ± 4.35
RD (ml / 24 h)	644.12 ± 631.87	760.00 ± 776.18
Qavf (ml/min)	832.35 ± 446.56	821.56 ± 440.04
Kt/V	1.03 ± 0.22	0.99 ± 0.25
spKt/V	1.22 ± 0.26	1.17 ± 0.30
URR (%)	63.55 ± 8.01	61.57 ± 9.08
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	4 (7.84)	4 (8.89)
HN (N, %)	18 (35.29)	8 (17.78)
DN (N, %)	10 (19.61)	8 (17.78)
ON (N, %)	4 (7.84)	2 (4.44)
CN (N, %)	14 (27.45)	12 (26.67)
RPC (N, %)	1 (1.96)	11 (24.44)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	30 (58.82)	29 (64.44)
HHD (N, %)	8 (15.69)	8 (17.78)
DC (N, %)	1 (1.96)	1 (2.22)
HA (N, %)	0 (0.00)	1 (2.22)
DMC (N, %)	12 (23.53)	6 (13.33)

KDE – краткоделујући еритропоетин, DDE – дугоделујући еритропоетин, N – број испитаника, P – пол испитаника, S – старост болесника, DD – дужина лечења хемодијализом, BMI – индекс телесне масе, SBP – систолни артеријски крвни притисак, DBP – дијастолни крвни притисак, MBP – средњи артеријски крвни притисак, WG – сува телесна маса болесника, IDWG – интердијализни принос у телесној маси болесника, %IDWG – проценат интердијализног приноса у телесној маси болесника, GNH – Glomerulonephritis Chronica, HN – Hypertensive Nephropathy, DN – Diabetic Nephropathy, ON – Obstructive Nephropathy, CN – Chronic Nephropathy, RPC – Renes Polycystici, HTA – Hypertensio Arterialis, HHD – Hypertensive Heart Disease, DC – Dilated Cardiomyopathy, HA – Hypotensio arterialis, DMC – Diabetes Mellitus Complications

Табела 7в. Општи подаци о болесницима у зависности од врсте и резистенције на дејство еритропоетина

ОПШТИ ПОДАЦИ	Краткоделујући еритропоетини – KDE		Дугоделујући еритропоетин – DDE	
	Резистенција – НЕ	Резистенција – ДА	Резистенција – НЕ	Резистенција – ДА
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	Xsr ± SD	Xsr ± SD
N (%)	39 (40.63)	12 (12.50)	21 (21.87)	24 (25.00)
P (м/ж, %)	24/15 (61.54/38.46)	7/5 (58.33/41.67)	14/7 (66.67/33.33)	13/11 (54.17/45.83)
S (год.)	66.00 ± 9.17	72.17 ± 7.40	56.52 ± 10.21	57.50 ± 10.96
DD (год.)	5.63 ± 6.65	3.63 ± 2.73	2.02 ± 1.54	5.12 ± 5.05
BMI (kg/m ²)	25.90 ± 4.89	25.03 ± 3.32	26.11 ± 5.26	25.93 ± 5.58
SBP (mmHg)	126.03 ± 17.02	130.83 ± 13.79	132.38 ± 13.00	127.71 ± 17.07
DBP (mmHg)	76.15 ± 7.82	75.00 ± 6.74	79.05 ± 7.00	75.00 ± 7.80
MBP (mmHg)	92.78 ± 10.19	93.61 ± 8.46	96.83 ± 8.13	92.57 ± 10.12
WG (kg)	72.45 ± 14.26	66.42 ± 11.29	75.40 ± 14.10	69.60 ± 16.96
IDWG (kg)	2.18 ± 0.94	2.42 ± 0.79	2.48 ± 1.37	2.65 ± 1.21
%IDWG (%)	3.07 ± 1.38	3.62 ± 0.95	3.28 ± 1.76	3.85 ± 1.73
UF (ml/h)	544.87 ± 235.58	604.17 ± 198.24	621.03 ± 340.52	661.46 ± 302.79
UFR (ml/kg/h)	7.68 ± 3.46	9.04 ± 2.37	8.23 ± 4.36	9.63 ± 4.32
RD (ml / 24 h)	656.41 ± 592.85	604.17 ± 773.56	985.71 ± 865.04	562.50 ± 643.91
Qavf (ml/min)	824.36 ± 455.84	858.33 ± 433.19	888.10 ± 447.65	763.33 ± 434.28
Kt/V	1.03 ± 0.24	1.05 ± 0.13	0.95 ± 0.19	1.02 ± 0.29
spKt/V	1.21 ± 0.28	1.25 ± 0.16	1.12 ± 0.22	1.22 ± 0.35
URR (%)	63.21 ± 8.72	64.65 ± 5.24	60.50 ± 7.51	62.51 ± 10.33
Примарна болест бубрега				
GNH (N, %)	3 (7.69)	1 (8.33)	2 (9.52)	2 (8.33)
HN (N, %)	13 (33.33)	5 (41.67)	4 (19.05)	6 (25.00)
DN (N, %)	7 (17.95)	3 (25.00)	4 (19.05)	4 (16.67)
ON (N, %)	4 (10.26)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (8.33)
CN (N, %)	11 (28.21)	3 (25.00)	3 (14.29)	7 (29.17)
RPC (N, %)	1 (2.56)	0 (0.00)	8 (38.10)	3 (12.50)
Коморбидитети				
HTA (N, %)	22 (56.41)	7 (58.33)	14 (66.67)	15 (62.50)
HHD (N, %)	7 (17.95)	1 (8.33%)	3 (14.29)	5 (20.83)
DC (N, %)	0 (0.00)	1 (8.33%)	1 (4.76)	0 (0.00)
HA (N, %)	1 (2.56)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (4.17)
DMC (N, %)	9 (23.08)	3 (25.00)	3 (14.29)	3 (12.50)

N – број испитаника, P – пол испитаника, S – старост болесника, DD – дужина лечења хемодијализом, BMI – индекс телесне масе, SBP – систолни артеријски крвни притисак, DBP – дијастолни крвни притисак, MBP – средњи артеријски крвни притисак, WG – сува телесна маса болесника, IDWG – интердијализни принос у телесној маси болесника, %IDWG – проценат интердијализног приноса у телесној маси болесника, UF – јачина ултрафилтрације, UFR – јачина ултрафилтрације, RD – резидуална диуреза, GNH – Glomerulonephritis Chronica, HN – Hypertensive Nephropathy, DN – Diabetic Nephropathy, ON – Obstructive Nephropathy, CN – Chronic Nephropathy, RPC – Renes Polycystici, HTA – Hypertensio Arterialis, HHD – Hypertensive Heart Disease, DC – Dilated Cardiomyopathy, HA – Hypotensio Arterialis, DMC – Diabetes Mellitus Complications

Просечна месечна доза краткоделујућег еритропоетина износила је 20784.31 ± 10673.92 IU, дугоделујућег еритропоетина 134.89 ± 71.88 μ g, просечна месечна доза интравенског гвожђа износила је 283.02 ± 174.02 mg, просечна месечна доза i.v. витамина C 1406.25 ± 196.18 mg, просечан месечни број ампула Veviplex-a износио је 11.25 ± 1.57 , просечна месечна доза витамина B₁₂ 3125.00 ± 1986 μ g, а просечна месечна доза фолне киселине 190.63 ± 67.01 mg. Секундарни хиперпаратиреоидизам испитиваних болесника лечен је везачима фосфата који садрже калцијум, активним метаболитима витамина D и парикалцитолом. Просечна месечна доза рокалтрола износила је 5.33 ± 3.27 μ g, а i.v. парикалцитола 35.00 ± 20.82 μ g. За лечење артеријске хипертензије 63 болесника (65.63%) користила су блокаторе ренин-ангиотензин система (углавном блокаторе конвертазе ангиотензина 1), 44 болесника (45.83%) бета блокаторе, 41 болесник (42.71%) диуретике Хенлеове петље и 32 болесника (33.33%) блокаторе калцијумских канала.

Стандардном интермитентном high-flux хемодијализом лечено је 85 болесника (88.54%), а 11 (11.46%) постдилуционом on-line хемодијафилтрацијом. За лечење постдилуционом on-line хемодијафилтрацијом, код 11 болесника (11.46%) коришћени су дијализатори с високопроточном полисулфонском мембраном површине 2.0–24 m², док су остали болесници (85 болесника, 88.54%) лечени high-flux хемодијализом коришћењем дијализатора с високопроточном полисулфонском мембраном површине 1.4–1.8 m². Код 87 болесника (90.63%) користио се раствор за хемодијализу с концентрацијом калцијума 1.75 mmol/l (PGS21), код шест болесника (6.25%) концентрација калцијума у раствору за хемодијализу била је 1.50 mmol/l (PGS25), а само код три болесника (3.13%) користио се раствор с концентрацијом калцијума 1.25 mmol/l (PGS27). Концентрација натријума Na⁺ у раствору за хемодијализу износила је 140 mmol/l, концентрација бикарбоната 35 mmol/l, а концентрација K⁺ 2.0 mmol/l.

Просечне вредности параметара анемије, статуса гвожђа, микроинфламације, нутритивног статуса, секундарног хиперпаратиреоидизма и хиперволемије, у зависности од примене краткоделујућих и дугоделујућег еритропоетина, приказане су у табелама 7б и 7в.

Ради процене утицаја оксидационог стреса на резистенцију на дејство еритропоетина испитивани су: супероксидни анјон (O₂⁻), водоник-пероксид (H₂O₂), супстанције које реагују с тиобарбитурном киселином (TBARS),

азотни моноксид (NO_2^-), супероксид димутаза (SOD), каталаза (CAT), активност редукованог глутатиона (GSH) и индекс резистенције на дејство еритропоетина (ERI). Просечне вредности испитиваних параметара оксидационог стреса приказане су у табелама 9 и 11.

Анализа фактора ризика за развој резистенције на дејство краткоделујућих еритропоетина (епоеин- α , епоетин- β) приказана је у табели 8.

Табела 8. Резистенција на дејство краткоделујућих еритропоетина: епоетин- α /епоетин- β

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	ERI (IU/kg/недељно/gHb)		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	< 1.0 IU/kg/gHb	\geq 1.0 IU/kg/gHb	
	Xsr \pm SD	Xsr \pm SD	
Hb (g/l)	104.73 \pm 10.07	95.63 \pm 9.94	t = 2.747, p = 0.008
Hct (%)	31.85 \pm 3.02	29.10 \pm 6.55	t = 2.738, p = 0.009
MCV (fl)	94.77 \pm 4.11	94.34 \pm 6.55	t = 0.274, p = 0.785
MCH (pg)	31.28 \pm 1.57	31.10 \pm 2.08	t = 0.338, p = 0.737
MCHC (g/l)	329.94 \pm 4.76	329.79 \pm 5.89	t = 0.087, p = 0.931
FOL (ng/ml)	23.05 \pm 12.66	26.45 \pm 8.43	z = -0.782, p = 0.434
VitB ₁₂ (pg/ml)	1011.79 \pm 522.06	1030.92 \pm 547.61	z = -0.095, p = 0.925
Fe ²⁺ (μ mol/l)	10.43 \pm 4.59	10.89 \pm 4.43	t = -0.304, p = 0.762
TSAT (%)	30.05 \pm 13.30	32.13 \pm 12.00	t = -0.482, p = 0.632
FER (ng/ml)	723.82 \pm 332.64	1016.38 \pm 371.10	t = -2.594, p = 0.015
CRP (mg/l)	9.89 \pm 10.74	13.13 \pm 12.90	z = -1.044, p = 0.297
UP (g/l)	63.83 \pm 5.23	63.29 \pm 4.20	t = 0.327, p = 0.745
ALB (g/l)	37.46 \pm 2.76	38.25 \pm 3.23	t = -0.831, p = 0.410
PALB (g/l)	0.26 \pm 0.09	0.30 \pm 0.06	t = -1.379, p = 0.174
TRSF (g/l)	1.55 \pm 0.30	1.49 \pm 0.27	t = 0.582, p = 0.563
UA (μ mol/l)	359.24 \pm 58.07	336.21 \pm 65.54	t = 1.166, p = 0.249
BMI (kg/m ²)	25.90 \pm 4.89	25.03 \pm 3.32	t = 0.571, p = 0.570
nPCR (g/kg/24h)	1.69 \pm 0.62	1.96 \pm 0.49	t = -1.356, p = 0.181
IDWG (%)	3.07 \pm 1.38	3.62 \pm 0.95	t = -1.273, p = 0.209
VitD (ng/ml)	14.83 \pm 7.67	18.69 \pm 12.62	t = -1.299, p = 0.200
iPTH (pg/ml)	199.93 \pm 269.35	143.55 \pm 103.43	z = -0.444, p = 0.657
Kt/V	1.03 \pm 0.24	1.05 \pm 0.13	t = -0.281, p = 0.780
spKt/V	1.21 \pm 0.28	1.25 \pm 0.16	t = -0.434, p = 0.666
URR (%)	63.21 \pm 8.72	64.65 \pm 5.24	t = -0.540, p = 0.592
PMDG (mg)	280.00 \pm 197.91	228.57 \pm 111.27	t = 0.654, p = 0.518

Међу болесницима који су лечени краткоделујућим еритропоетинима резистенција на дејство еритропоетина утврђена је код 12 болесника (12.50%). Болесници с резистенцијом на дејство краткоделујућих еритропоетина (епоетин- α , епоетин- β) имају високи статистички значајност (p < 0.01) мању конц. Hgb у крви и вредност хематокрита, статистички значајно (p < 0.05) већу концентрацију феритина у серуму и статистички значајно (p < 0.05) мању концентрацију каталазе у еритроцитима него болесници без резистенције на дејство еритропоетина, табеле 8 и 9. Повећана концентрација феритина у серуму и смањена концентрација каталазе у еритроцитима

значајни су фактори ризика за развој резистенције на дејство краткоделујућих еритропоетина.

Утицај параметара оксидационог стреса на резистенцију на дејство краткоделујућих еритропоетина (епоетин- α , эпоетин- β) приказан је у табели 9.

Табела 9. Параметри оксидационог стреса и резистенција на дејство краткоделујућих еритропоетина: эпоетин- α /епоетин- β

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	ERI (IU/kg/недељно/gHb)		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	< 1.0 IU/kg/gHb	\geq 1.0 IU/kg/gHb	
	Xsr \pm SD	Xsr \pm SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.03 \pm 3.28	5.88 \pm 7.26	z = -1.671, p = 0.095
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.37 \pm 1.47	4.66 \pm 1.54	t = -0.599, p = 0.552
TBARS (μ mol/ml)	1.12 \pm 0.15	1.13 \pm 0.08	z = -1.290, p = 0.197
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	4.01 \pm 1.38	4.00 \pm 1.24	t = 0.006, p = 0.955
GSH (nmol/ml)	117858.57 \pm 18403.35	118499.65 \pm 14876.13	t = -0.110, p = 0.913
CAT (U/gHb \times 10 ⁴)	2.74 \pm 2.72	1.50 \pm 1.02	z = -2.168, p = 0.030
SOD (U/gHb \times 10 ⁴)	39.03 \pm 20.64	28.49 \pm 16.83	t = 1.609, p = 0.114

ERI – индекс резистенције на дејство еритропоетина, O₂⁻ – супероксидни анион, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид димутаза

Анализа фактора који утичу на резистенцију на дејство дугоделујућег еритропоетина (дарбепоедин- α) приказана је у табели 10.

Табела 10. Резистенција на дејство дугоделујућег еритропоетина: дарбепоетин- α

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	ERI ($\mu\text{kg}/\text{недељно}/\text{gHb}$)		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	< 0.005 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gHb}$	$\geq 0.005 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{gHb}$	
	Xsr \pm SD	Xsr \pm SD	
Hgb	108.64 \pm 8.53	97.35 \pm 13.42	t = 3.311, p = 0.002
Hct	32.67 \pm 2.64	30.50 \pm 4.55	t = 2.845, p = 0.007
MCV	93.48 \pm 3.79	92.96 \pm 4.11	t = 0.443, p = 0.660
MCH	30.99 \pm 1.30	30.49 \pm 1.44	t = 1.206, p = 0.234
MCHC	331.41 \pm 4.21	328.60 \pm 4.86	t = 2.052, p = 0.046
FOL	22.91 \pm 9.77	21.49 \pm 11.01	z = -0.568, p = 0.570
VitB ₁₂	1112.00 \pm 493.71	1017.63 \pm 526.42	z = -0.642, p = 0.521
Fe	9.77 \pm 3.99	8.49 \pm 3.02	t = 1.218, p = 0.230
TSAT (%)	26.98 \pm 9.94	25.48 \pm 10.95	t = 0.478, p = 0.635
FER (ng/ml)	692.60 \pm 298.31	767.67 \pm 296.22	t = -0.845, p = 0.403
CRP (mg/l)	7.38 \pm 7.47	17.38 \pm 18.32	t = -2.335, p = 0.024
UP (g/l)	65.36 \pm 4.73	65.15 \pm 5.24	t = 0.141, p = 0.888
албумини	38.81 \pm 3.19	37.50 \pm 3.58	t = 1.287, p = 0.205
PALB (g/l)	0.32 \pm 0.07	0.25 \pm 0.09	t = 2.730, p = 0.009
TRSF (g/l)	1.67 \pm 0.40	1.49 \pm 0.37	t = 1.561, p = 0.126
UA ($\mu\text{mol}/\text{l}$)	372.71 \pm 47.51	370.46 \pm 50.18	t = 0.154, p = 0.878
BMI (kg/m^2)	26.11 \pm 5.26	25.93 \pm 5.58	t = 0.111, p = 0.912
nPCR (дневно)	1.63 \pm 0.46	1.91 \pm 0.58	t = -1.762, p = 0.085
IDWG (%)	3.28 \pm 1.76	3.85 \pm 1.73	t = -1.096, p = 0.279
VitD (ng/ml)	24.24 \pm 11.26	15.99 \pm 8.84	t = 2.750, p = 0.009
iPTH (pg/ml)	107.08 \pm 119.69	179.32 \pm 147.55	t = -1.787, p = 0.081
Kt/V	0.95 \pm 0.19	1.02 \pm 0.29	t = -0.989, p = 0.328
spKt/V	1.12 \pm 0.22	1.22 \pm 0.35	t = -1.141, p = 0.260
URR (%)	60.50 \pm 7.51	62.51 \pm 10.33	t = -0.736, p = 0.466
PMDG (mg)	277.78 \pm 130.17	325.00 \pm 186.47	t = -0.649, p = 0.524

Код болесника који су лечени дугоделујућим еритропоетином (дарбепоетин- α), резистенција на дејство еритропоетина утврђена је код 24 болесника (53.3%). Болесници с резистенцијом на дејство дугоделујућег еритропоетина (дарбепоетин- α) имају високо статистички значајно ($p < 0.01$) анемијски синдром, смањену концентрацију преалбумина и витамина D у серуму, статистички значајно ($p < 0.05$) мању средњу концентрацију хемоглобина у еритроцитима, као и статистички значајно ($p < 0.05$) већу концентрацију CRP-а у серуму него болесници код којих није доказана резистенција на дејство еритропоетина. Болесници с резистенцијом на дугоделујући еритропоетин имају значајну статистичку разлику, односно већу концентрацију

супероксидног анјона, водоник-пероксид него болесници без постојања резистенције, табеле 10 и 11. Оксидациони стрес, микроинфламација, малнутриција и недостатак витамина D значајни су фактори ризика за развој резистенције на дејство дугоделујућег еритропоетина.

Утицај параметара оксидационог стреса на резистенцију на дејство дугоделујућег еритропоетина (дарбепоедин- α) приказан је у табели 11.

Табела 11. Параметри оксидационог стреса и резистенција на дејство дугоделујућег еритропоетина: дарбепоедин- α

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	ERI ($\mu\text{g/kg/недељно/gHb}$)		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	< 0.005 $\mu\text{g/kg/gHb}$	$\geq 0.005 \mu\text{g/kg/gHb}$	
	Xsr \pm SD	Xsr \pm SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	2.10 \pm 1.78	5.57 \pm 8.05	z = -2.020, p = 0.043
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.16 \pm 1.45	5.36 \pm 1.99	t = -2.287, p = 0.027
TBARS ($\mu\text{mol/ml}$)	1.24 \pm 0.44	1.12 \pm 0.13	z = -0.628, p = 0.530
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.88 \pm 1.31	3.66 \pm 1.32	t = 0.566, p = 0.574
GSH (nmol/ml)	120471.53 \pm 16752.57	121478.41 \pm 21132.15	t = -0.175, p = 0.114
CAT (U/gHb $\times 10^4$)	2.12 \pm 1.26	2.14 \pm 1.44	t = -0.040, p = 0.862
SOD (U/gHb $\times 10^4$)	32.56 \pm 20.59	23.74 \pm 16.09	t = 1.611, p = 0.121

ERI – индекс резистенције на дејство еритропоетина, O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид димутаза

Униваријантна и мултиваријантна логистичка регресиона анализа показала је да су врста еритропоетина и концентрација CRP-а у серуму независни фактори ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина, табела 12.

Табела 12. Независни фактори ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина

Параметри	Мултиваријантна логистичка регресиона анализа							
	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% CI for EXP(B)	
							Lower	Upper
Еро	1.319	0.462	8.164	1	0.004	3.739	1.513	9.239
CRP	0.042	0.019	5.102	1	0.024	1.043	1.006	1.082
Constant	-3.002	0.800	14.071	1	0.000	0.050		

Табела 13. Општи подаци о болесницима у зависности од модалитета хемодијализе

ОПШТИ ПОДАЦИ	МОДАЛИТЕТ ХЕМОДИЈАЛИЗЕ	
	HDF	HD
	Xsr ± SD	Xsr ± SD
N (%)	24 (19.20)	101 (80.80)
P (м/ж, %)	19/5 (79.17/20.83)	59/42 (58.42/41.58)
S (год.)	59.92 ± 8.20	63.52 ± 10.88
DD (год.)	8.74 ± 5.17	4.50 ± 5.49
BMI (kg/m ²)	25.63 ± 3.53	25.91 ± 4.84
SBP (mmHg)	131.67 ± 13.73	126.68 ± 16.13
DBP (mmHg)	77.50 ± 6.76	75.84 ± 7.65
MBP (mmHg)	95.56 ± 8.49	92.79 ± 9.73
WG (kg)	74.21 ± 12.69	71.50 ± 15.15
IDWG (kg)	2.33 ± 0.92	2.47 ± 1.15
%IDWG (%)	3.22 ± 1.32	3.50 ± 1.64
UF (ml/h)	583.33 ± 229.21	616.75 ± 286.75
UFR (ml/kg/h)	8.04 ± 3.30	8.77 ± 4.09
RD (ml/24h)	425.00 ± 591.98	706.44 ± 694.61
Qavf (ml/min)	967.08 ± 415.62	816.73 ± 434.45
Kt/V	1.11 ± 0.22	1.03 ± 0.24
spKt/V	1.31 ± 0.26	1.22 ± 0.29
URR(%)	66.41 ± 7.12	63.26 ± 8.87
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	3 (12.50)	8 (7.92)
HN (N, %)	10 (41.67)	29 (28.71)
DN (N, %)	1 (4.17)	18 (17.82)
ON (N, %)	1 (4.17)	7 (6.93)
CN (N, %)	4 (16.67)	24 (23.76)
RPC (N, %)	5 (20.83)	15 (14.85)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	15 (62.50)	62 (61.39)
HHD (N, %)	5 (20.83)	17 (16.83)
DC (N, %)	1 (4.17)	2 (1.98)
HA (N, %)	2 (8.33)	1 (0.99)
DMC (N, %)	1 (4.17)	19 (18.81)

Утицај модалитета дијализе на параметре анемије, статуса гвожђа, микроинфламације, малнутриције и секундарног хиперпаратиреодизма приказан је у табели 14.

Табела 14. Утицај модалитета дијализе на параметре анемије, статуса гвожђа, микроинфламације, малнутриције и секундарног хиперпаратиреодизма

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	МОДАЛИТЕТ ДИЈАЛИЗЕ		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	HDF	HD	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
Hb (g/l)	106.48 ± 13.13	103.47 ± 12.07	t = 1.080, p = 0.282
Hct (%)	32.33 ± 4.00	31.33 ± 3.79	t = 1.025, p = 0.251
MCV	93.33 ± 4.84	94.03 ± 4.45	t = -0.685, p = 0.495
MCH (pg)	30.73 ± 1.78	31.04 ± 1.59	t = -0.832, p = 0.407
MCHC (g/l)	329.19 ± 7.11	330.14 ± 4.51	t = -0.882, p = 0.413
FOL (ng/ml)	20.42 ± 13.16	22.97 ± 11.08	z = -1.410, p = 0.158
VitB ₁₂ (pg/ml)	962.33 ± 503.24	1008.67 ± 521.51	z = -0.326, p = 0.745
Fe ²⁺ (μmol/l)	9.13 ± 3.22	10.27 ± 4.34	t = -1.206, p = 0.230
TSAT (%)	24.65 ± 8.10	29.16 ± 12.02	t = -1.747, p = 0.083
FER (ng/ml)	593.56 ± 305.57	781.61 ± 344.84	t = -2.451, p = 0.016
CRP (mg/l)	7.57 ± 8.77	11.28 ± 12.86	z = -1.310, p = 0.190
UP (g/l)	64.06 ± 4.14	64.43 ± 4.79	t = -0.342, p = 0.733
ALB (g/l)	38.27 ± 2.93	37.94 ± 3.05	t = 0.480, p = 0.632
PALB (g/l)	0.32 ± 0.07	0.27 ± 0.09	t = 2.758, p = 0.007
TRSF (g/l)	1.57 ± 0.28	1.55 ± 0.36	t = 0.252, p = 0.801
UA (μmol/l)	368.48 ± 69.10	366.54 ± 56.80	t = 0.144, p = 0.886
BMI (kg/m ²)	25.63 ± 3.53	25.91 ± 4.84	t = -0.268, p = 0.789
nPCR (g/kg/24h)	1.80 ± 0.55	1.82 ± 0.61	t = -0.159, p = 0.874
RD (ml/24h)	425.00 ± 591.98	706.44 ± 694.61	t = -1.966, p = 0.049
IDWG (%)	3.22 ± 1.32	3.50 ± 1.64	t = -0.800, p = 0.425
UFR (ml/kg/h)	8.04 ± 3.30	8.77 ± 4.09	t = -0.808, p = 0.421
VitD (ng/ml)	20.16 ± 9.69	17.33 ± 9.58	t = 1.295, p = 0.198
iPTH (pg/ml)	210.01 ± 275.69	166.85 ± 178.00	z = -0.301, p = 0.764

Kt/V	1.11 ± 0.22	1.03 ± 0.24	t = 1.517, p = 0.132
spKt/V	1.31 ± 0.26	1.22 ± 0.29	t = 1.312, p = 0.192
URR (%)	66.41 ± 7.12	63.26 ± 8.87	t = 1.616, p = 0.109
PMDG (mg)	256.25 ± 131.50	279.25 ± 171.37	z = -0.154, p = 0.878
ERI (IU/kg/gHb)	0.605 ± 0.372	0.772 ± 0.420	t = -0.989, p = 0.327
ERI (µg/kg/gHb)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.003	t = 0.411, p = 0.683

На хемодијафилтрацији болесници имају статистички мање значајну концентрацију феритина у серуму, односно мањи степен функционалног недостатка гвожђа, у односу на оне који се лече редовном стандардном процедуром. Ови болесници имају значајно високо статистички већу концентрацију преалбумина, односно бољи статус нутриције, него болесници који се лече редовном стандардном хемодијализом. Хемодијафилтрација је метода лечења која обезбеђује мањи степен малнутриције и већи степен искоришћавања гвожђа за синтезу хемоглобина у еритроцитима.

Утицај модалитета дијализе на параметре оксидационог стреса приказан је у табели 15.

Табела 15. Утицај модалитета дијализе на параметре оксидационог стреса

	МОДАЛИТЕТ ДИЈАЛИЗЕ		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	HDF	HD	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.08 ± 2.60	3.70 ± 5.30	z = -1.197, p = 0.231
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.81 ± 1.99	4.62 ± 1.53	t = 0.534, p = 0.594
TBARS (µmol/ml)	1.19 ± 0.26	1.13 ± 0.22	z = -0.386, p = 0.699
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.67 ± 1.26	3.85 ± 1.35	z = -0.345, p = 0.730
GSH (nmol/ml)	118304.32 ± 19772.17	119784.48 ± 17044.17	t = -0.371, p = 0.712
CAT (U/gHbx10 ⁴)	2.36 ± 1.54	2.18 ± 1.96	z = -0.707, p = 0.480
SOD (U/gHbx10 ⁴)	43.41 ± 28.16	30.30 ± 17.73	z = -2.004, p = 0.045

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид дизмутаза

Применом хемодијафилтрације постоји статистички значајна, већа (p < 0.05) концент. супероксид дизмутазе (SOD) у еритроцитима, односно већи степен антиоксидационе заштите, него код испитаника који се лече редовном, стандардном хемодијализом.

Општи подаци о болесницима у зависности од адекватности хемодијализе приказани су у табели 16.

Табела 16. Адекватност хемодијализе у односу на друге параметре

ОПШТИ ПОДАЦИ	АДЕКВАТНОСТ ХЕМОДИЈАЛИЗЕ	
	spKt/V < 1.20	spKt/V ≥ 1.20
	X _{Sr} ± SD	X _{Sr} ± SD
N (%)	58 (46.40)	67 (53.60)
P (м/ж, %)	42/16 (72.41/27.59)	36/31 (53.73/46.27)
S (год.)	61.95 ± 10.13	63.60 ± 10.80
DD (год.)	3.65 ± 3.64	6.75 ± 6.65
BMI (kg/m ²)	27.07 ± 4.68	24.80 ± 4.29
SBP (mmHg)	129.48 ± 15.01	126.04 ± 16.34
DBP (mmHg)	77.76 ± 6.77	74.78 ± 7.85
MBP (mmHg)	95.00 ± 8.67	91.87 ± 10.07
WG (kg)	79.80 ± 14.75	65.28 ± 10.89
IDWG (kg)	2.38 ± 1.25	2.49 ± 0.97
%IDWG (%)	2.98 ± 1.46	3.86 ± 1.58
UF (ml/h)	595.55 ± 311.61	623.13 ± 242.79
UFR (ml/kg/h)	7.46 ± 3.63	9.64 ± 3.95
RD (ml/24h)	903.45 ± 743.15	435.07 ± 544.19
Qavf (ml/min)	875.34 ± 477.12	819.85 ± 393.41
Kt/V	0.85 ± 0.14	1.22 ± 0.16
spKt/V	1.00 ± 0.15	1.45 ± 0.20
URR (%)	56.65 ± 6.34	70.11 ± 4.43
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	6 (10.34)	5 (7.46)
HN (N, %)	17 (29.31)	24 (35.82)
DN (N, %)	10 (17.24)	8 (11.94)
ON (N, %)	2 (3.45)	6 (8.96)
CN (N, %)	14 (24.14)	14 (20.90)
RPC (N, %)	9 (15.52)	10 (14.93)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	34 (58.62)	42 (62.69)
HHD (N, %)	11 (18.97)	11 (16.42)
DC (N, %)	1 (1.72)	2 (2.99)
HA (N, %)	2 (3.45)	1 (1.49)
DMC (N, %)	10 (17.24)	11 (16.42)

N – број испитаника, P – пол испитаника, S – старост болесника, DD – дужина лечења хемодијализом, BMI – индекс телесне масе, SBP – систолни артеријски крвни притисак, DBP – дијастолни крвни притисак, MBP – средњи артеријски крвни притисак, WG – сува телесна маса болесника, IDWG – интердијализни принос у телесној маси болесника, %IDWG – проценат интердијализног приноса у телесној маси болесника, UF – јачина ултрафилтрације, UFR – јачина ултрафилтрације, RD – резидуална диуреза, GNH – Glomerulonephritis Chronica, HN – Hypertensive Nephropathy, DN – Diabetic Nephropathy, ON – Obstructive Nephropathy, CN – Chronic Nephropathy, RPC – Renes Polycystici, HTA – Hypertensio Arterialis, HHD – Hypertensive Heart Disease, DC – Dilated Cardiomyopathy, HA – Hypotensio Arterialis, DMC – Diabetes Mellitus Complications

Утицај адекватности хемодијализе на испитиване параметре приказан је у табели 17.

Табела 17. Утицај адекватности дијализе на параметре анемије, статуса гвожђа, микроинфламације, малнутриције и секундарног хиперпаратиреоидизма

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	АДЕКВАТНОСТ ДИЈАЛИЗЕ		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	spKt/V < 1.20	spKt/V ≥ 1.20	
	X _{sr} ± SD	X _{sr} ± SD	
хемоглобин	105.22 ± 12.42	103.04 ± 12.17	t = 0.989, p = 0.324
хематокрит	31.80 ± 4.01	31.29 ± 3.69	t = 0.740, p = 0.461
MCV	92.81 ± 4.16	94.83 ± 4.63	t = -2.555, p = 0.012
MCH (pg)	30.62 ± 1.55	31.29 ± 1.64	t = -2.331, p = 0.021
MCHC (g/l)	330.16 ± 5.83	329.78 ± 4.39	t = 0.406, p = 0.686
FOL (ng/ml)	23.81 ± 11.28	21.32 ± 11.63	z = -1.203, p = 0.229
VitB ₁₂ (pg/ml)	1008.88 ± 521.30	991.90 ± 515.89	z = -0.081, p = 0.935
Fe (μmol/l)	9.40 ± 3.13	10.61 ± 4.84	t = -1.624, p = 0.107
TSAT (%)	26.28 ± 8.05	30.04 ± 13.60	t = -1.848, p = 0.067
FER (ng/ml)	682.02 ± 355.66	800.46 ± 327.49	t = -1.938, p = 0.055
CRP (mg/l)	12.51 ± 12.87	8.89 ± 11.47	z = -1.983, p = 0.047
UP (g/l)	64.56 ± 4.59	64.18 ± 4.75	t = 0.455, p = 0.650
албумини	37.61 ± 3.12	38.34 ± 2.91	t = -1.355, p = 0.178
PALB (g/l)	0.27 ± 0.09	0.28 ± 0.08	t = -0.533, p = 0.595
TRSF (g/l)	1.59 ± 0.38	1.53 ± 0.30	t = 1.120, p = 0.265
UA (μmol/l)	379.20 ± 60.63	356.28 ± 55.95	t = 2.197, p = 0.030
BMI (kg/m ²)	24.80 ± 4.29	27.07 ± 4.68	t = 2.823, p = 0.006
nPCR	2.02 ± 0.60	1.57 ± 0.50	t = -4.571, p = 0.0001
RD (ml/24h)	435.07 ± 544.07	903.45 ± 743.15	z = -3.871, p = 0.0001
IDWG (%)	3.86 ± 1.58	2.38 ± 1.25	t = -3.207, p = 0.002
UFR (ml/kg/h)	9.64 ± 3.95	7.46 ± 3.63	t = -3.198, p = 0.002
VitD (ng/ml)	17.23 ± 7.78	18.44 ± 11.01	t = -0.698, p = 0.486
iPTH (pg/ml)	171.03 ± 182.07	178.69 ± 215.37	z = -0.339, p = 0.735
Kt/V	0.85 ± 0.14	1.22 ± 0.16	t = -13.759, p = 0.0001
spKt/V	1.00 ± 0.15	1.45 ± 0.20	t = -14.109, p = 0.0001
URR (%)	56.65 ± 6.34	70.11 ± 4.43	t = -13.902, p = 0.0001
PMDG (mg)	289.47 ± 194.23	254.84 ± 112.07	z = 0.880, p = 0.382
ERI (IU/kg/gHb)	0.659 ± 0.343	0.829 ± 0.461	t = -1.477, p = 0.146
ERI (μg/kg/gHb)	0.005 ± 0.003	0.005 ± 0.003	t = -0.566, p = 0.574

Табела 18. Оксидативни стрес и адекватност хемодијализе

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	АДЕКВАТНОСТ ДИЈАЛИЗЕ		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	spKt/V < 1.20	spKt/V ≥ 1.20	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.28 ± 4.03	3.84 ± 5.56	z = -0.074, p = 0.941
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.50 ± 1.58	4.79 ± 1.66	t = -0.996, p = 0.321
TBARS (μmol/ml)	1.13 ± 0.13	1.16 ± 0.29	z = -1.578, p = 0.115
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.89 ± 1.40	3.74 ± 1.27	z = -0.565, p = 0.572
GSH (nmol/ml)	120314.95 ± 19026.57	118795.07 ± 16226.64	t = 0.482, p = 0.631
CAT (U/gHb×10 ⁴)	2.16 ± 1.96	2.26 ± 1.83	z = -0.239, p = 0.811
SOD (U/gHb×10 ⁴)	31.16 ± 21.84	34.26 ± 19.66	z = -1.440, p = 0.150

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид димутаза

Општи подаци о болесницима у зависности од учесталости хемодијализе приказани су у табели 19. Утицај учесталости хемодијализе на испитиване параметре приказан је у табели 20.

Табела 19. Општи подаци о болесницима у зависности од учесталости хемодијализе

ОПШТИ ПОДАЦИ	УЧЕСТАЛОСТ ХЕМОДИЈАЛИЗЕ	
	2 x 4 h	3 x 4 h
	Xsr ± SD	Xsr ± SD
N (%)	22 (17.60)	103 (82.40)
P (м/ж, %)	14/8 (63.64/36.36)	64/39 (62.14/37.86)
S (год.)	61.86 ± 11.09	63.04 ± 10.40
DD (год.)	1.76 ± 1.57	6.07 ± 5.93
BMI (kg/m ²)	25.42 ± 4.09	25.95 ± 4.72
SBP (mmHg)	130.23 ± 17.49	127.09 ± 15.41
DBP (mmHg)	75.45 ± 7.39	76.31 ± 7.54
MBP (mmHg)	93.71 ± 9.73	93.24 ± 9.54
WG (kg)	70.86 ± 13.07	72.26 ± 15.07
IDWG (kg)	1.59 ± 1.09	2.62 ± 1.03
%IDWG (%)	2.25 ± 1.44	3.71 ± 1.50
UF (ml/h)	399.62 ± 269.33	655.34 ± 256.34
UFR (ml/kg/h)	5.66 ± 3.57	9.26 ± 3.74
RD (ml/24h)	1350.00 ± 607.69	503.40 ± 603.07
Qavf (ml/min)	706.82 ± 318.69	875.24 ± 449.83
Kt/V	0.96 ± 0.21	1.06 ± 0.24
spKt/V	1.11 ± 0.24	1.27 ± 0.29
URR (%)	61.03 ± 8.48	64.47 ± 8.57
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	2 (9.09)	9 (8.74)
HN (N, %)	7 (31.82)	32 (31.07)
DN (N, %)	1 (4.55)	18 (17.48)
ON (N, %)	2 (9.09)	6 (5.83)
CN (N, %)	9 (40.91)	19 (18.45)
RPC (N, %)	1 (4.55)	19 (18.45)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	18 (81.82)	58 (56.31)
HHD (N, %)	1 (4.55)	21 (20.39)
DC (N, %)	0 (0.00)	3 (2.91)
HA (N, %)	0 (0.00)	3 (2.91)
DMC (N, %)	3 (13.64)	18 (17.48)

Табела 20. Утицај учесталости хемодијализе на параметре анемије, статуса гвожђа, микроинфламације, малнутриције и секундарног хиперпаратиреоидизма

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	УЧЕСТАЛОСТ ХЕМОДИЈАЛИЗЕ		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	2 x 4 h	3 x 4 h	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
Hb (g/l)	102.40 ± 11.73	104.40 ± 11.42	t = -0.690, p = 0.492
Hct (%)	31.10 ± 3.44	31.61 ± 3.92	t = -0.574, p = 0.479
MCV (fl)	93.91 ± 5.05	93.89 ± 4.42	t = 0.020, p = 0.984
MCH (pg)	31.10 ± 1.62	30.95 ± 1.64	t = 0.402, p = 0.688
MCHC (g/l)	331.05 ± 6.54	329.72 ± 4.73	t = 1.107, p = 0.270
FOL (ng/ml)	22.69 ± 10.69	22.43 ± 11.71	z = -0.544, p = 0.589
VitB ₁₂ (pg/ml)	781.64 ± 518.83	1046.37 ± 506.24	z = -2.323, p = 0.020
Fe (μmol/l)	10.77 ± 3.20	9.87 ± 4.34	z = -1.511, p = 0.131
TSAT (%)	28.95 ± 9.08	28.16 ± 11.97	t = 0.295, p = 0.768
FER (ng/ml)	617.02 ± 303.69	772.95 ± 347.92	t = -1.948, p = 0.054
CRP (mg/l)	14.20 ± 16.33	11.27 ± 16.64	z = -1.323, p = 0.186
UP (g/l)	64.18 ± 3.86	64.39 ± 4.83	t = -0.192, p = 0.848
ALB (g/l)	38.52 ± 2.42	37.89 ± 3.13	t = 0.819, p = 0.414
PALB (g/l)	0.31 ± 0.07	0.27 ± 0.09	t = 2.081, p = 0.040
TRSF (g/l)	1.70 ± 0.35	1.53 ± 0.33	t = 2.231, p = 0.027
UA (μmol/l)	368.80 ± 68.23	366.51 ± 57.28	t = 0.164, p = 0.870
BMI (kg/m ²)	25.42 ± 4.09	25.95 ± 4.72	t = -0.484, p = 0.629
nPCR (g/kg/24h)	1.27 ± 0.42	1.93 ± 0.57	t = -5.072, p = 0.0001
RD (ml/24h)	1350.00 ± 607.69	503.40 ± 603.07	z = -5.209, p = 0.0001
IDWG (%)	2.25 ± 1.44	3.71 ± 1.50	t = 9.451, p = 0.0001
UFR (ml/kg/h)	5.66 ± 3.57	9.26 ± 3.74	t = -3.198, p = 0.002
VitD (ng/ml)	21.86 ± 10.23	17.03 ± 9.32	z = -2.084, p = 0.037
iPTH (pg/ml)	200.22 ± 131.22	169.78 ± 211.77	z = -2.146, p = 0.032
Kt/V	0.96 ± 0.21	1.06 ± 0.24	t = -1.780, p = 0.078
spKt/V	1.11 ± 0.24	1.27 ± 0.29	t = -2.315, p = 0.022
URR (%)	61.03 ± 8.48	64.47 ± 8.57	t = -1.712, p = 0.089
PMDG (mg)	358.82 ± 197.04	246.15 ± 140.67	z = -2.292, p = 0.022
ERI (IU/kg/gHb)	0.757 ± 0.382	0.747 ± 0.430	t = 0.075, p = 0.940
ERI (μg/kg/gHb)	0.005 ± 0.003	0.005 ± 0.003	t = -0.171, p = 0.865

Утицај учесталости хемодијализе на параметре оксидационог стреса приказан је у табели 21.

Табела 21. Утицај учесталости хемодијализе на параметре оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	УЧЕСТАЛОСТ ХЕМОДИЈАЛИЗЕ		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	2 x 4 h	3 x 4 h	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.40 ± 5.63	3.62 ± 4.75	z = -1.398, p = 0.162
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.42 ± 1.82	4.70 ± 1.59	t = -0.732, p = 0.465
TBARS (μmol/ml)	1.09 ± 0.06	1.15 ± 0.25	z = -0.731, p = 0.465
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.83 ± 1.24	3.81 ± 1.35	z = -0.564, p = 0.573
GSH (nmol/ml)	115031.08 ± 19268.34	120454.88 ± 17079.55	t = -1.322, p = 0.189
CAT (U/gHb×10 ⁴)	2.36 ± 2.82	2.19 ± 1.63	z = -0.339, p = 0.734
SOD (U/gHb×10 ⁴)	31.08 ± 22.42	33.19 ± 20.38	z = -0.797, p = 0.426

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид дизмутаза

Повезаност између дозе i.v. гвожђа и параметара оксидационог стреса приказана је у табели 22.

Табела 22. Повезаност између дозе i.v. гвожђа и параметара оксидационог стреса

Параметри испитивања	Основни статистички параметри		Значајност (p)
	$\bar{X}_{sr} \pm SD$	N	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	2.54 ± 2.10	69	$\rho_{emp} = 0.149$ p = 0.221
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.52 ± 1.63	69	$\rho_{emp} = 0.185$ p = 0.128
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		
TBARS (μmol/ml)	1.16 ± 0.26	69	$\rho_{emp} = -0.002$ p = 0.986
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.77 ± 1.27	69	$\rho_{emp} = -0.070$ p = 0.567
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		
GSH (nmol/ml)	120814.41 ± 19186.90	69	$\rho_{emp} = -0.141$ p = 0.249
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		
CAT (U/gHbx10 ⁴)	2.39 ± 2.29	69	$\rho_{emp} = -0.101$ p = 0.409
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		
SOD (U/gHbx10 ⁴)	35.38 ± 21.07	69	$\rho_{emp} = 0.118$ p = 0.335
PMDG (mg)	273.91 ± 162.38		

O₂⁻ – супероксидни анјон (nmol/ml), H₂O₂ – водоник-пероксид (nmol/ml), TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину (μmol/ml), NO₂⁻ – азотни моноксид (nmol/ml), GSH – редуковани глутатион (nmol/ml), CAT – каталаза (U/gHbx10⁴), SOD – супероксид димутаза (U/gHbx10⁴), PMDG – просечна месечна доза гвожђа /Spearman-ов тест корелације/

Између испитиваних параметара нема статистички значајне повезаности (p > 0.05), табела 22.

Општи подаци о болесницима у зависности од микроинфламације приказани су у табели 23. Утицај микроинфламације на испитиване параметре приказан је у табели 24.

Табела 23. Општи подаци о болесницима у зависности од микроинфламације

ОПШТИ ПОДАЦИ	МИКРОИНФЛАМАЦИЈА	
	НЕ	ДА
	X _{sr} ± SD	X _{sr} ± SD
N (%)	60 (48.00)	65 (52.00)
P (м/ж, %)	33/27 (55.00/45.00)	45/20 (69.23/30.77)
S (год.)	61.33 ± 11.56	64.22 ± 9.27
DD (год.)	5.29 ± 5.05	5.33 ± 6.21
BMI (kg/m ²)	24.81 ± 4.05	26.82 ± 4.90
SBP (mmHg)	130.08 ± 15.64	125.38 ± 15.67
DBP (mmHg)	77.33 ± 6.34	75.08 ± 8.31
MBP (mmHg)	94.92 ± 8.54	91.85 ± 10.22
WG (kg)	68.38 ± 12.00	72.26 ± 15.07
IDWG (kg)	2.30 ± 1.03	2.57 ± 1.17
%IDWG (%)	3.45 ± 1.65	3.45 ± 1.53
UF (ml/h)	575.69 ± 256.33	642.31 ± 291.38
UFR (ml/kg/h)	8.63 ± 4.11	8.63 ± 3.82
RD (ml/24h)	693.33 ± 703.95	614.62 ± 666.31
Qavf (ml/min)	779.00 ± 408.49	907.08 ± 449.47
Kt/V	1.08 ± 0.21	1.01 ± 0.26
spKt/V	1.28 ± 0.26	1.20 ± 0.31
URR (%)	65.47 ± 7.34	62.38 ± 9.47
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	6 (10.00)	5 (7.69)
HN (N, %)	23 (38.33)	19 (29.23)
DN (N, %)	5 (8.33)	12 (18.46)
ON (N, %)	3 (5.00)	5 (7.69)
CN (N, %)	12 (20.00)	15 (23.08)
RPC (N, %)	11 (18.34)	9 (13.85)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	36 (60.00)	42 (64.62)
HHD (N, %)	12 (20.00)	10 (15.38)
DC (N, %)	1 (1.67)	2 (3.08)
HA (N, %)	0 (0.00)	3 (4.62)
DMC (N, %)	11 (18.33)	8 (12.31)

N – број испитаника, P – пол испитаника, S – старост болесника, DD – дужина лечења хемодијализом, BMI – индекс телесне масе, SBP – систолни артеријски крвни притисак, DBP – дијастолни крвни притисак, MBP – средњи артеријски крвни притисак, WG – сува телесна маса болесника, IDWG – интердијализни принос у телесној маси болесника, %IDWG – проценат интердијализног приноса у телесној маси болесника, UF – јачина ултрафилтрације, UFR – јачина ултрафилтрације, RD – резидуална диуреза NH – Glomerulonephritis Chronica, HN – Hypertensive Nephropathy, DN – Diabetic Nephropathy, ON – Obstructive Nephropathy, CN – Chronic Nephropathy, RPC – Renes Polycystici, HTA – Hypertensio Arterialis, HHD – Hypertensive Heart Disease, DC – Dilated Cardiomyopathy, HA – Hypotensio Arterialis, DMC – Diabetes Mellitus Complications

Табела 24. Утицај микроинфламације на параметре анемије, статуса гвожђа, малнутриције и секундарног хиперпаратиреоидизма

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	МИКРОИНФЛАМАЦИЈА		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	НЕ	ДА	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
Hgb	104.32 ± 12.84	103.79 ± 11.84	t = 0.241, p = 0.810
Hct	31.61 ± 4.01	31.45 ± 3.69	t = 0.230, p = 0.818
MCV	94.88 ± 4.09	92.98 ± 4.72	t = 2.387, p = 0.018
MCH	31.41 ± 1.47	30.58 ± 1.67	t = 2.915, p = 0.004
MCHC (g/l)	330.97 ± 4.77	329.02 ± 5.24	t = 2.165, p = 0.032
FOL (ng/ml)	24.00 ± 11.73	21.07 ± 11.18	z = -1.432, p = 0.152
VitB ₁₂ (pg/ml)	1119.38 ± 493.43	888.95 ± 515.93	z = -2.298, p = 0.022
Fe (μmol/l)	11.72 ± 4.47	8.50 ± 3.18	t = 4.667, p = 0.0001
TSAT (%)	32.33 ± 12.56	24.58 ± 8.99	t = 3.990, p = 0.0001
FER (ng/ml)	712.58 ± 325.99	775.89 ± 360.77	t = -1.023, p = 0.308
CRP (mg/l)	2.31 ± 1.29	18.20 ± 12.85	t = -9.537, p = 0.0001
UP (g/l)	63.66 ± 4.37	65.00 ± 4.86	t = -1.619, p = 0.108
ALB (g/l)	38.70 ± 2.70	37.36 ± 3.17	t = 2.530, p = 0.013
PALB (g/l)	0.31 ± 0.08	0.25 ± 0.08	t = 4.139, p = 0.001
TRSF (g/l)	1.60 ± 0.34	1.52 ± 0.34	t = 1.254, p = 0.212
UA (μmol/l)	362.38 ± 60.54	371.10 ± 57.80	t = -0.823, p = 0.412
VitD (ng/ml)	19.33 ± 9.02	16.54 ± 10.03	t = 1.633, p = 0.105
iPTH (pg/ml)	174.08 ± 222.98	176.11 ± 177.62	z = -0.494, p = 0.621
Kt/V	1.08 ± 0.21	1.01 ± 0.26	t = 1.744, p = 0.084
spKt/V	1.28 ± 0.26	1.20 ± 0.31	t = 1.663, p = 0.099
URR (%)	65.47 ± 7.34	62.38 ± 9.47	t = 2.028, p = 0.045
PMDG (mg)	239.39 ± 153.99	305.56 ± 165.52	z = -1.878, p = 0.060
KDE-M (IU/M)	20000.00 ± 8979.98	21076.92 ± 12370.68	t = -0.359, p = 0.721
KDE-R (IU/gHb)	202.36 ± 94.41	214.14 ± 138.74	t = -0.358, p = 0.722
DDE-M (μg/M)	101.50 ± 45.11	161.60 ± 78.67	t = -3.036, p = 0.004
DDE-R (μg/gHb)	1.03 ± 0.59	1.69 ± 0.93	t = -2.738, p = 0.009

Микроинфламација потстиче развој малнутриције болесника на хемодијализи. Болесници с микроинфламацијом имају високо статистички значајно ($p < 0.01$) већи индекс резистенције и захтевају високо статистички значајно ($p < 0.01$) већу месечну дозу дугоделујућег еритропоетина. Микроинфламација доводи до мање концентрације витамина B₁₂ у серуму него болесници који немају микроинфламацију. Између концентрације C-реактивног протеина у серуму и концентрације витамина B₁₂ у серуму постоји статистички значајна ($p < 0.05$) негативна повезаност ($r = -0.210$, $p = 0.019$).

Утицај микроинфламације на параметре оксидационог стреса приказан је у табели 25.

Табела 25. Микроинфламације и утицај на параметре оксидационог стреса

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	МИКРОИНФЛАМАЦИЈА		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	НЕ	ДА	
	X _{sr} ± SD	X _{sr} ± SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.80 ± 5.53	3.37 ± 4.26	z = -0.287, p = 0.774
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.76 ± 1.66	4.56 ± 1.60	t = 0.691, p = 0.491
TBARS (mmol/ml)	1.15 ± 0.26	1.14 ± 0.19	z = -0.109, p = 0.914
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.95 ± 1.36	3.68 ± 1.30	z = -1.414, p = 0.157
GSH (nmol/ml)	119847.42 ± 19268.34	119179.87 ± 18303.87	t = 0.856, p = 0.832
CAT (U/gHb×10 ⁴)	2.14 ± 1.40	2.29 ± 2.25	z = -0.259, p = 0.796
SOD (U/gHb×10 ⁴)	31.75 ± 19.29	33.81 ± 21.98	z = -0.215, p = 0.830

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид дизмутаза

Између испитиваних параметара нема статистички значајне разлике (p > 0.05), табела 25.

Општи подаци о болесницима у зависности од малнутриције приказани су у табели 26.

Утицај малнутриције на испитиване параметре приказан је у табели 27.

Табела 26. Општи подаци о болесницима у зависности од малнутриције

ОПШТИ ПОДАЦИ	МАЛНУТРИЦИЈА	
	НЕ	ДА
	X _{sr} ± SD	X _{sr} ± SD
N (%)	52 (41.60)	73 (58.40)
P (м/ж, %)	35/17 (67.31/32.69)	43/30 (58.90/57.69)
S (год.)	59.65 ± 12.21	65.10 ± 8.44
DD (год.)	4.27 ± 4.35	6.06 ± 6.36
BMI (kg/m ²)	25.93 ± 4.12	25.81 ± 4.94
SBP (mmHg)	128.37 ± 17.37	127.12 ± 14.62
DBP (mmHg)	76.54 ± 7.64	75.89 ± 7.42
MBP (mmHg)	93.81 ± 10.15	92.97 ± 9.14
WG (kg)	71.52 ± 12.66	72.37 ± 16.07
IDWG (kg)	2.38 ± 1.07	2.49 ± 1.14
%IDWG (%)	3.42 ± 1.69	3.47 ± 1.51
UF (ml/h)	593.75 ± 266.46	622.15 ± 283.90
UFR (ml/kg/h)	8.56 ± 4.23	8.68 ± 3.76
RD (ml/24h)	782.69 ± 729.68	559.59 ± 636.60
Qavf (ml/min)	816.92 ± 409.59	866.03 ± 451.18
Kt/V	1.04 ± 0.19	1.05 ± 0.27
spKt/V	1.23 ± 0.23	1.24 ± 0.32
URR (%)	64.06 ± 7.42	63.73 ± 9.44
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	5 (9.62)	6 (8.22)
HN (N, %)	18 (34.62)	22 (30.14)
DN (N, %)	6 (11.54)	13 (17.81)
ON (N, %)	1 (1.92)	7 (9.59)
CN (N, %)	13 (25.00)	14 (19.18)
RPC (N, %)	9 (17.31)	11 (15.07)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	32 (61.54)	44 (60.27)
HHD (N, %)	10 (19.23)	12 (16.44)
DC (N, %)	0 (0.00)	3 (4.11)
HA (N, %)	1 (1.92)	2 (2.74)
DMC (N, %)	9 (17.31)	12 (16.44)

N – број испитаника, P – пол испитаника, S – старост болесника, DD – дужина лечења хемодијализом, BMI – индекс телесне масе, SBP – систолни артеријски крвни притисак, DBP – дијастолни крвни притисак, MBP – средњи артеријски крвни притисак, WG – сува телесна маса болесника, IDWG – интердијализни принос у телесној маси болесника, %IDWG – проценат интердијализног приноса у телесној маси болесника, UF – јачина ултрафилтрације, UFR – јачина ултрафилтрације, RD – резидуална диуреза, GNH – Glomerulonephritis Chronica, HN – Hypertensive Nephropathy, DN – Diabetic Nephropathy, ON – Obstructive Nephropathy, CN – Chronic Nephropathy, RPC – Renes Polycystici, HTA – Hypertensio Arterialis, HHD – Hypertensive Heart Disease, DC – Dilated Cardiomyopathy, HA – Hypotensio Arterialis, DMC – Diabetes Mellitus Complications

Табела 27. Утицај малнутриције на параметре анемије, статуса гвожђа, микроинфламације и секундарног хиперпаратиреоидизма

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	МАЛНУТРИЦИЈА		p
	НИЈЕ присутна	ЈЕСТЕ присутна	
хемоглобин	103.83 ± 13.21	104.20 ± 11.67	t = 0.938, p = 0.350
хематокрит	31.41 ± 3.96	31.61 ± 3.77	t = 1.175, p = 0.242
MCV	93.83 ± 4.39	93.94 ± 4.63	t = -0.165, p = 0.869
MCH	31.10 ± 1.56	30.89 ± 1.67	t = -0.840, p = 0.402
MCHC	331.38 ± 5.06	328.94 ± 4.90	t = -2.160, p = 0.033
Фолна киселина	24.45 ± 11.30	21.08 ± 11.50	z = -1.391, p = 0.164
VitB ₁₂ (pg/ml)	1075.08 ± 523.82	946.14 ± 507.79	z = -0.632, p = 0.527
Fe (μmol/l)	9.96 ± 3.64	10.11 ± 4.52	t = -0.127, p = 0.899
TSAT (%)	26.91 ± 10.57	29.28 ± 12.06	t = 0.847, p = 0.377
FER (ng/ml)	714.55 ± 309.89	767.55 ± 367.84	t = 0.510, p = 0.611
CRP (mg/l)	5.97 ± 8.30	13.85 ± 13.51	z = -2.439, p = 0.015
UP (g/l)	64.45 ± 3.95	64.29 ± 5.14	t = -0.020, p = 0.984
ALB (g/l)	39.37 ± 2.33	37.03 ± 3.09	t = -2.021, p = 0.045
PALB (g/l)	0.36 ± 0.05	0.22 ± 0.06	z = -9.517, p = 0.0001
TRSF (g/l)	1.67 ± 0.31	1.48 ± 0.34	t = 3.198, p = 0.002
UA (μmol/l)	375.96 ± 66.34	360.47 ± 52.80	t = -1.553, p = 0.123
VitD (ng/ml)	22.54 ± 9.64	14.56 ± 8.17	t = -3.201, p = 0.002
iPTH (pg/ml)	153.74 ± 169.61	190.37 ± 218.73	z = -0.148, p = 0.883
Kt/V	1.04 ± 0.19	1.05 ± 0.27	t = 1.873, p = 0.064
spKt/V	1.23 ± 0.23	1.24 ± 0.32	t = 1.872, p = 0.064
URR (%)	64.06 ± 7.42	63.73 ± 9.44	t = 1.626, p = 0.107
PMDG (mg)	282.61 ± 161.39	269.57 ± 164.48	z = -2.120, p = 0.034
KDE-M (IU/M)	23800.00 ± 8654.78	18500.00 ± 11483.51	t = -1.700, p = 0.095
KDE-R (IU/gHb)	249.01 ± 98.26	182.77 ± 122.92	t = -2.148, p = 0.037
DDE-M (μg/M)	115.24 ± 45.78	152.08 ± 86.02	t = 1.549, p = 0.129
DDE-R	1.19 ± 0.57	1.58 ± 1.02	t = 1.571, p = 0.124

Болесници који имају малнутрицију и лече се редовном хемодијализом, имају мању статистичку значајност ($p < 0.05$) средње концентрације хемоглобина, статистички значајну ($p < 0.05$) мању месечну дозу гвожђа, статистички значајно мању резистенцију на дејство еритропоетина. Код болесника који се лече редовном хемодијализом, малнутриција је повезана са инфламацијом и смањеним витамином D.

Утицај малнутриције на параметре оксидационог стреса приказан је у табели 28.

Табела 28. Малнутриција и параметри оксидационог стреса

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	МАЛНУТРИЦИЈА		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	НЕ	ДА	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	4.05 ± 5.54	3.24 ± 4.39	z = -0.183, p = 0.855
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.69 ± 1.71	4.63 ± 1.57	t = -0.213, p = 0.832
TBARS (μmol/ml)	1.17 ± 0.27	1.12 ± 0.19	z = -0.545, p = 0.586
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.81 ± 1.41	3.81 ± 1.28	z = -0.561, p = 0.575
GSH (nmol/ml)	118249.22 ± 18079.11	120391.46 ± 17189.92	t = 1.419, p = 0.158
CAT (U/gHbx10 ⁴)	2.11 ± 1.35	2.30 ± 2.19	z = -0.393, p = 0.694
SOD (U/gHbx10 ⁴)	33.34 ± 19.02	32.45 ± 21.90	z = -0.778, p = 0.437

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид дизмутаза

Између испитиваних параметара нема статистички значајне разлике (p > 0.05), табела 28.

Општи подаци о болесницима у односу на феритин у серуму приказани су у таб. 29. Утицај концентрације феритина у серуму на испитиване параметре приказан је у табели 30.

Табела 29. Општи подаци о болесницима у зависности од феритина у серуму

ОПШТИ ПОДАЦИ	Концентрација феритина у серуму	
	≤ 800 ng/ml	> 800 ng/ml
	Xsr ± SD	Xsr ± SD
N (%)	69 (55.20)	56 (44.80)
P (м/ж, %)	46/23 (66.67/33.33)	32/24 (57.14/42.86)
S (год.)	62.10 ± 10.99	63.73 ± 9.85
DD (год.)	5.02 ± 4.99	5.68 ± 6.42
BMI (kg/m ²)	26.15 ± 4.34	25.49 ± 4.93
SBP (mmHg)	126.88 ± 17.13	128.57 ± 14.00
DBP (mmHg)	75.94 ± 8.10	76.43 ± 6.72
MBP (mmHg)	92.92 ± 10.41	93.81 ± 8.41
WG (kg)	73.71 ± 13.30	69.93 ± 16.13
IDWG (kg)	2.22 ± 1.13	2.71 ± 1.03
%IDWG (%)	3.06 ± 1.59	3.93 ± 1.45
UF (ml/h)	556.76 ± 281.51	676.34 ± 256.48
UFR (ml/kg/h)	7.66 ± 3.96	9.82 ± 3.62
RD (ml/24h)	725.36 ± 738.62	562.50 ± 601.91
Qavf (ml/min)	849.57 ± 412.40	840.71 ± 461.59
Kt/V	1.01 ± 0.23	1.09 ± 0.25
spKt/V	1.19 ± 0.26	1.30 ± 0.31
URR (%)	62.70 ± 8.52	65.31 ± 8.60
Примарна болест бубрега		
GNH (N, %)	7 (10.14)	4 (7.14)
HN (N, %)	23 (33.33)	16 (28.57)
DN (N, %)	6 (8.70)	13 (23.21)
ON (N, %)	5 (7.25)	3 (5.36)
CN (N, %)	15 (21.74)	13 (23.21)
RPC (N, %)	13 (18.84)	7 (12.50)
Коморбидитети		
HTA (N, %)	46 (66.67)	31 (55.36)
HHD (N, %)	12 (17.39)	10 (17.86)
DC (N, %)	1 (1.45)	5 (8.93)
HA (N, %)	2 (2.90)	1 (1.79)
DMC (N, %)	8 (11.59)	9 (16.07)

N – број испитаника, P – пол испитаника, S – старост болесника, DD – дужина лечења хемодијализом, BMI – индекс телесне масе, SBP – систолни артеријски крвни притисак, DBP – дијастолни крвни притисак, MBP – средњи артеријски крвни притисак, WG – сува телесна маса болесника, IDWG – интердијализни принос у телесној маси болесника, %IDWG – проценат интердијализног приноса у телесној маси болесника, UF – јачина ултрафилтрације, UFR – јачина ултрафилтрације, RD – резидуална диуреза, GNH – Glomerulonephritis Chronica, HN – Hypertensive Nephropathy, DN – Diabetic Nephropathy, ON – Obstructive Nephropathy, CN – Chronic Nephropathy, RPC – Renes Polycystici, HTA – Hypertensio Arterialis, HHD – Hypertensive Heart Disease, DC – Dilated Cardiomyopathy, HA – Hypotensio Arterialis, DMC – Diabetes Mellitus Complications

Табела 30. Утицај концентрације феритина на параметре анемије, статуса гвожђа, микроинфламације и секундарног хиперпаратиреозиса

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	Концентрација феритина у серуму		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	≤ 800 ng/ml	> 800 ng/ml	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
Hb (g/l)	106.55 ± 12.80	100.96 ± 10.96	t = 2.585, p = 0.011
Hct (%)	32.27 ± 4.02	30.61 ± 3.41	t = 2.452, p = 0.016
MCV	93.03 ± 4.19	94.96 ± 4.71	t = -2.417, p = 0.017
MCH	30.70 ± 1.56	31.32 ± 1.65	t = -2.157, p = 0.033
MCHC (g/l)	329.94 ± 5.22	329.97 ± 4.97	t = -2.160, p = 0.033
FOL (ng/ml)	22.78 ± 12.05	22.11 ± 10.86	z = -0.350, p = 0.726
VitB ₁₂ (pg/ml)	908.62 ± 522.67	1023.38 ± 512.24	z = -0.487, p = 0.626
Fe (μmol/l)	9.54 ± 3.15	10.67 ± 5.11	t = -1.519, p = 0.131
TSAT (%)	26.38 ± 9.43	30.65 ± 13.30	t = -2.095, p = 0.038
FER (ng/ml)	505.20 ± 220.74	1041.59 ± 213.95	t = -13.697, p = 0.0001
CRP (mg/l)	9.01 ± 11.20	12.49 ± 13.24	z = -1.087, p = 0.277
UP (g/l)	64.38 ± 5.03	64.32 ± 4.20	t = 0.074, p = 0.941
ALB (g/l)	38.17 ± 2.99	37.80 ± 3.06	t = 0.796, p = 0.427
PALB (g/l)	0.29 ± 0.09	0.27 ± 0.08	t = 1.434, p = 0.154
TRSF (g/l)	1.62 ± 0.36	1.48 ± 0.30	t = 2.362, p = 0.020
UA (μmol/l)	376.62 ± 66.44	354.96 ± 46.27	t = -1.553, p = 0.123
VitD (ng/ml)	18.32 ± 9.01	17.33 ± 10.39	t = 0.570, p = 0.570
iPTH (pg/ml)	196.66 ± 234.84	148.61 ± 143.41	z = -0.511, p = 0.609
Kt/V	1.01 ± 0.23	1.09 ± 0.25	t = -1.799, p = 0.075
spKt/V	1.19 ± 0.26	1.30 ± 0.31	t = -2.235, p = 0.027
URR (%)	62.70 ± 8.52	65.31 ± 8.60	t = -1.696, p = 0.092
PMDG (mg)	282.98 ± 182.16	254.55 ± 110.10	t = 0.675, p = 0.502
KDE-M (IU/M)	18758.00 ± 8078.43	22782.61 ± 13180.41	t = -1.356, p = 0.181
KDE-R (IU/gHb)	189.60 ± 89.03	231.77 ± 144.77	t = -1.292, p = 0.202
DDE-M (μg/M)	125.42 ± 73.72	145.71 ± 69.90	z = -0.773, p = 0.439
DDE-R (μg/gHb)	1.30 ± 0.91	1.50 ± 0.80	t = -0.780, p = 0.439

Утицај концентрације феритина у серуму на параметре оксидационог стреса приказан је у табели 31.

Табела 31. Утицај концентрације феритина у серуму на параметре оксидационог стреса

ПАРАМЕТРИ ИСПИТИВАЊА	Концентрација феритина у серуму		ЗНАЧАЈНОСТ (p)
	≤ 800 ng/ml	> 800 ng/ml	
	Xsr ± SD	Xsr ± SD	
O ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.09 ± 4.03	4.18 ± 5.77	z = -0.991, p = 0.322
H ₂ O ₂ (nmol/ml)	4.61 ± 1.71	4.71 ± 1.53	t = -0.326, p = 0.745
TBARS (μmol/ml)	1.15 ± 0.22	1.13 ± 0.23	z = -0.291, p = 0.771
NO ₂ ⁻ (nmol/ml)	3.68 ± 1.22	3.98 ± 1.44	z = -0.859, p = 0.390
GSH (nmol/ml)	120588.82 ± 19312.14	118159.07 ± 15100.13	t = 0.770, p = 0.443
CAT (U/gHb×10 ⁴)	2.57 ± 2.26	1.79 ± 1.15	z = -2.484, p = 0.013
SOD (U/gHb×10 ⁴)	31.97 ± 19.11	33.87 ± 22.59	z = -0.023, p = 0.982

O₂⁻ – супероксидни анјон, H₂O₂ – водоник-пероксид, TBARS – реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину, NO₂⁻ – азотни моноксид, GSH – редуковани глутатион, CAT – каталаза, SOD – супероксид дизмутаза

Болесници на хемодијализи са концентрацијом феритина у серуму > 800 ng/ml имају статистички значајно мању (p < 0.05) активност каталазе у еритроцитима него болесници с концентрацијом феритина у серуму мањом од 800 ng/ml. Антиоксидациона заштита је статистички значајно смањена код болесника са функционалним недостатком гвожђа.

6. ДИСКУСИЈА

Кардиоваскуларне болести представљају главни узрок смрти, код болесника у последњем стадијуму хроничне болести бубрега, који се лече редовном дијализом. Оксидациони стрес чини нетрадиционални фактор ризика за развој кардиоваскуларних болести у овој популацији болесника [72, 73]. Повећано стварање слободних радикала кисеоника и смањене активности антиоксидационих система заштите је узрок настанка. Код болесника који се лече хемодијализом имамо четири типа оксидационог стреса: стандардни оксидациони стрес, хлоровани стрес, нитрозативни стрес и карбонилни стрес, а антиоксидативни ензими (супероксид дизмутааза, каталаза и глутатион пероксидаза) и неензимски антиоксидативни системи: хидрофилни витамин С и липофилни витамин Е представљају заштитне механизме од оксидационог стреса [72–74]. Клиничке последице оксидационог стреса су: убрзана атеросклероза, резистенција на дејство еритропоетина (анемија) и амилоидоза узрокована β_2 -микроглобулином [72–74].

Степен биокомпатибилности дијализне мембране у великом проценту утиче на оксидативни стрес. Спроведено истраживање, које је поредило утицај две различите дијализне мембране на оксидациони стрес показују да сесија хемодијализе с купрофанском мембраном, значајно статистички повећава концентрацију малондиалдехида у серуму, у односу на сесију дијализе с полисулфонском мембраном [75]. Након сесије хемодијализе с полисулфонском и купрофанском мембраном, активност антиоксидативних ензима се повећава, али је то повећање статистички значајно само за каталазу код болесника који су дијализирани полисулфонском мембраном [75]. Међутим, поређењем утицаја сеансе хемодијализе коришћењем хемофанске и полисулфонске мембране, закључено је да полисулфонска мембрана увећава концентрацију малондиалдехида у серуму и умањује концентрацију селена и активност глутатион пероксидазе у односу на хемофанску дијализну мембрану [76]. Сесија хемодијализе са high-flux полисулфонском мембраном статистички значајно мање подстиче стварање слободних радикала кисеоника у току хемодијализе у односу на low-flux полисулфонска мембрана [77]. Сесија хемодијализе с high-flux полисулфонском мембраном омогућује бољу контролу функције неутрофила него сесија хемодијализе с low-flux полисулфонском мембраном [77].

On-line хемодијафилтрација, биокомпатибилна високопропустљива дијализна мембрана и ултрачист раствор за хемодијализу утичу на смањење оксидативног стреса и успоравају развој атеросклерозе [78, 79]. У току појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације, мембранама које имају велику површину, као и високу пропустљивост за воду ($K_{uf} > 50 \text{ ml/h} \times \text{mmHg}$) долази до појачаног губитка олигоелемената који се налазе у трагу (селен, цинк, бакар), а они су значајни кофактори ензимског антиоксидационог система (SOD). Статистички значајно мања концентрација параметара оксидационог стреса остварује се on-line хемодијафилтрацијом с мембраном која је обложена витамином Е, применом у континуитету током три до шест месеци, него стандардном хемодијализом с low-flux мембраном која није обложена витамином Е. Резултати клиничких испитивања указују да лечење on-line хемодијафилтрацијом с high-flux мембранама током три до шест месеци, знатније смањује инфламацију, оксидациони стрес, резистенцију на дејство еритропоетина и обезбеђује бољу интрадијализну хемодинамску стабилност него хемодијализа с low-flux мембранама [78, 79]. Постдилуциона on-line хемодијафилтрација с високим конвективним волуменом ($V_{\text{conv}} \geq 23 \text{ l/4h}$) статистички значајно више поправља преживљавање болесника него конвенционална хемодијализа [78, 79]. Мембране за хемодијализу (on-line хемодијафилтрацију) обложене витамином Е смањују концентрацију параметара липидне пероксидације у серуму, као што су: малондиалдехид (MDA), реактивне супстанције везане за тиобарбитуричну киселину (TBARS) и оксидовани LDL холестерол (oxLDL) [46–53]. Те мембране смањују и концентрацију параметара оксидационог оштећења нуклеинских киселина, као што је 8-OHdG, као и концентрацију параметара микроинфламације (CRP, интерлеукин-6) [46–53]. Лечење high-flux хемодијализом (on-line хемодијафилтрацијом) с полисулфонском мембраном обложеном витамином Е током три до шест месеци, значајно смањује оксидативни стрес, микроинфламацију, индекс резистенције на дејство еритропоетина, поправља лечење анемије, смањује количину еритропоетина и дебљину интима-медија каротидних артерија, без утицаја на параметре адекватности хемодијализе (Kt/V индекс) [46–53]. Резултати спроведеног испитивања показују да се након појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације с high-flux полисулфонском мембраном обложеном витамином Е (Leocsed 21H) статистички значајно смањује концентрација реактивних супстанција везаних за тиобарбитурну киселину (TBARS), али и активност супероксид дизмутазе (SOD) [80]. То се може објаснити дејством

витамина Е, али и губитком микроелемента, кофактора ензима супероксид дизмутаза у току сеансе on-line хемодијафилтрације [81, 82]. До сада спроведена испитивања показују да се у току појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације и хемодијализе с high-flux полисулфонском мембраном значајна количина микроелемената губи (селен, цинк, бакар), што има за последицу смањену активности антиоксидативних ензима, као што су: супероксид дизмутаза и глутатион пероксидаза [83–86]. Нормална концентрација цинка у серуму износи 70–110 $\mu\text{g}/\text{dl}$, у еритроцитима 40–44 $\mu\text{g}/\text{gHb}$, а нормална активност супероксид дизмутаза у еритроцитима јесте 1.102–1.601 IU/gHb. Код болесника који су на дијализи, цинк се примењује у дози од 100 mg/дан, током осам недеља. Резултати испитивања показују да цинк примењен у тој дози статистички значајно повећава активност супероксид дизмутаза у еритроцитима, док се концентрација малондиладехида у серуму статистички значајно смањује [87, 88]. Поред олигоелемената и хидросолубилни витамини у току сеансе дијализе се губе, као и њихово антиоксидативно дејство (витамин С). Клиренс витамина С у току сеансе хемодијализе износи 30%–50%, а код high-flux хемодијализе и хемодијафилтрације преко 50%. Због смањеног антиоксидационог капацитета и концентрације редукованог глутатиона, поред high-flux полисулфонских мембрана обложених витамином Е, треба применити и олигоелементе, витамин С и витамин Е. Витамин С треба применити у дози од 300 mg i.v. после сваке појединачне сеансе хемодијализе у току осам до дванаест недеља (уз мониторинг концентрације оксалата у серуму), док се витамин Е примењује per os у дози 400–800 IU/дан током 12–16 недеља за секундарну превенцију кардиоваскуларних догађаја, а снажно антиоксидативно дејство остварује у дози од 1.000 mg/дан per os у току осам недеља (alpha tocopherol: 1.0 mg = 1.5 IU) [84–86].

Као неинвазиван дијагностички поступак за процену атеросклерозе користи се В-мод ултрасонографија каротидних артерија [89]. Болесници на редовним хемодијализма имају статистички значајно већу дебљину интима-медија каротидних артерија од опште популације (одсуство болести бубрега) [89]. Између концентрације албумина у серуму и дебљине интима-медија каротидних артерија постоји статистички значајна негативна повезаност [89]. Дебљина интима-медија каротидних артерија има статистички значајно позитивну корелацију са концентрацијом С-реактивног протеина [89]. Концентрација реактивних супстанција тиобарбитурне киселине у серуму (TBARS) статистички значајно позитивно корелише с дебљином интима-медија каротидних артерија код болесника који се лече редовном хемодијализом [90]. Између параметра оксидационог

оштећења DNA, односа 8-OhdG/dG (енгл. 8-hydroxy-2-deoxyguanosine /deoxyguanosine), концентрације малондиалдехида у серуму и дебљине интима-медија каротидних артерија утврђена је статистички позитивна значајна статистичка повезаност. Статистички значајна негативна повезаност доказана је између активности супероксид димутазе и дебљине интима-медија каротидних артерија [91]. Откривање атеросклеротских плакова ултразвуком каротидних артерија, и мерењем дебљине интима-медија cITM (енгл. Carotid Intima-Media Thickness) од великог су значаја за процену очуваности укупне артеријске васкулатуре [92]. Према препорукама ЕАЕМР (енгл. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products), cITM је прихваћен као сурогат маркер атеросклерозе [92]. Ултразвук каротидних артерија користи се за процену кардиоваскуларног система код болесника на редовним хемодијализама. На тај начин се врши и процена васкуларних калцификација [92].

Кардиоваскуларне болести представљају најчешћа компликацију и водећи узрок смрти болесника у терминалном стадијуму хроничне болести бубрега, који се лече редовном хемодијализом. Смртност због болести срца у тој популацији је и до 20 пута већа него у општој. Познавање нетрадиционалних фактора ризика за развој кардиоваскуларних болести је први корак у превенцији и лечењу болесника [93]. Уремијски токсини, оксидациони стрес, микроинфламација, малнутриција и ендотелна дисфункција представљају значајни нетрадиционални фактор ризика за развој атеросклеротских кардиоваскуларних болести у популацији болесника који се лече хемодијализом [93]. Уремијски токсини потстичу појачану активацију леукоцита (повећана оксидациона и проинфламаторна активност леукоцита), усходно регулишу интеракције између леукоцита и ендотела и инфилтрацију мононуклеарних ћелија у атеросклеротске васкуларне лезије [93]. Асиметрични диметиларгинин (ADMA), indoxyl sulfate (IP) и p-cresyl sulfate (pCS) су уремијски токсини који испољавају прооксидационо и проинфламаторно дејство, спечавају стварање азотног монооксида у ендотелним ћелијама и имају висок атерогени потенцијал (убрзавају прогресију поремећаја функције ендотела) [93].

Добар предиктор кардиоваскуларног морталитета је хипоалбуминемија. Верификоваби су статистички значајно повећани параметри микроинфламације и оксидационог стреса. Резултати овог испитивања, показали су да између концентрације албумина и преалбумина у серуму постоји високо статистички значајна ($p < 0.01$) позитивна повезаност. Између концентрације албумина и преалбумина у серуму и

дебљине интима-медија каротидних артерија утврђена је високо статистички значајна ($p < 0.01$) негативна повезаност, што је у складу с резултатима до сада спроведених испитивања која су такође потврдила статистички значајну негативну корелацију с параметрима нутриције код болесника на редовним хемодијализама [94].

Међу пацијентима који примењују редовну хемодијализу, дебљина интима-медија каротидних артерија статистички значајно позитивно корелише с концентрацијом С-реактивног протеина и проинфламаторних цитокина у серуму [95]. Резултати истраживања нису показали статистички значајну позитивну корелацију с дебљином интима-медија каротидних артерија, што показује потребу за мерењем осетљивијих параметара микроинфламације у овој популацији болесника, као што су проинфламаторни цитокини (IL-6, TNF α). Значајну улогу у процесу развоја атеросклерозе има липидна пероксидација. Резултати ове студије се подударају са до сада учињених истраживањима других аутора, односно постојање статистички значајне позитивне повезаности између концентрације супстанција које реагују с тиобарбитурном киселином у серуму – TBARS (енгл. ThioBarbituric Acid Reactive Substances) и дебљине интима-медија каротидних артерија [95]. Негативна повезаност доказана је између активности супероксид дизмутазе у еритроцитима и дебљине интима-медија каротидних артерија, што је у сагласности с резултатима других аутора [95].

Примарни узрок анемије, јесте смањено стварање еритропоетина. Примене одговарајуће дозе еритропоетина се код 5%–10% болесника не постигне циљни ниво хемоглобина ($Hb = 110\text{--}120\text{ g/l}$). Резултати овог испитивања утврдили су већу преваленцију резистенције на дејство еритропоетина. Резистенција је заступљена код око 10% болесника који су примали краткоделујући еритропоетин (епоеин- α , епоетин- β) и код око 50% болесника код којих је за лечење примењиван дугоделујући еритропоетин (дарбепоеин- α). Резистенција на дејство еритропоетина је фактор ризика, који утиче на развој кардиоваскуларног морбидитета и морталитета [96]. Резултати до сада учињених испитивања утврдили су постојање статистички значајне негативне повезаности између концентрације проинфламаторних цитокина и концентрације хемоглобина у крви. Болесници код којих постоји резистенција на дејство дугоделујућег еритропоетина имају високо статистички значајно мању концентрацију хемоглобина у крви, као и статистички значајно већу концентрацију

CRP-a у серуму. Такви резултати у складу су с резултатима до сада учињених испитивања, која су утврдила постојање статистички значајне негативне повезаности између концентрације CRP-a, проинфламаторних цитокина (интерлеукин-6) и концентрације хемоглобина у крви [96]. Болесници с резистенцијом на дејство краткоделујућег и дугоделујућег еритропоетина имају већу концентрацију супероксидног аниона и водоник-пероксида, као и смањену концентрацију каталазе у еритроцитима. Сагласни су са другим ауторима, који су утврдили значајну повезаност између оксидационог стреса и степена анемије. Они су доказали статистички значајну позитивну повезаност између концентрације хемоглобина у крви и концентрације супероксид димутазе у еритроцитима, као и статистички значајну негативну повезаност између концентрације хемоглобина у крви и концентрације малондиалдехида у еритроцитима [96]. Статус гвожђа у организму болесника који се лече редовном хемодијализом има значајну улогу у развоју резистенције на дејство еритропоетина. Резултати овог истраживања показали су да болесници код којих постоји резистенција на дејство краткоделујућег еритропоетина (епоеин- α , епоетин- β) имају концентрацију феритина већу него болесници без резистенције. Болесници с резистенцијом на дејство дугоделујућег еритропоетина (дарбепоеин- α) имају статистички значајно мању концентрацију преалбумина и витамина D у серуму него болесници без доказане резистенције, која је истоветна као и код других истраживача. Повећана концентрација феритина у серуму и функционални недостатак гвожђа значајни су фактори за развој резистенције на дејство еритропоетина [97]. У до сада учињеним истраживањима, моделом лонгитудиналне линеарне регресије утврђена је статистички значајна позитивна повезаност између индекса резистенције на дејство еритропоетина и концентрације феритина и CRP-a у серуму, процента интердијализног приноса у телесној маси болесника (%IDWG) и употребе блокатора конвертазе ангиотензина 1 [97]. Оксидациони стрес, микроинфламација, малнутриција, недостатак витамина D и функционални недостатак гвожђа значајни су фактори ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина [96, 97].

Малнутриција је заступљена код 30%–60% болесника. Резултати спроведеног истраживања показали су да болесници код којих постоји резистенција на дејство дугоделујућег еритропоетина имају статистички значајно мању концентрацију преалбумина у серуму него болесници код којих није утврђена резистенција. Ови резултати, као и код других, резистенција на дејство еритропоетина показује

статистички значајно већа концентрације hsCRP-a и интерлеукина-6, као и статистички значајно мања концентрација албумина и преалбумина у серуму. Мултиваријантном линеарном регресионом анализом, ови аутори показали су да су hsCRP и IL-6 јаки и независни позитивни предиктори резистенције на дејство еритропоетина, док су концентрација албумина и преалбумина јаки и независни негативни предиктори развоја резистенције на дејство еритропоетина [98]. Суплементација селена, *per os*, у дози од 200 μg /дан током дванаест недеља, цинка, *per os*, у дози од 100 mg /дан током осам до дванаест недеља и L-карнитина *i.v.* у дози од 1.000 mg три пута недељно, после сваке сесије хемодијализе у току два-три месеца, повећава капацитет ензимске антиоксидационе заштите и статус малнутриције [99].

Значајно статистички већа концентрација хепцидина у серуму је код дијализираних пацијената, него код контролне групе испитаника. Протеин који контролише апсорпцију гвожђа је хепцидин и његову дистрибуцију у организму болесника (има важну улогу у развоју функционалног недостатка гвожђа). Мерење је неопходно због примене еритропоетина. Одреливање концентрација хепцидина у серуму омогућава индивидуални приступ лечења еритропоетином, којом се омогућава мања резистенција на дејство еритропоетина и већа ефикасност еритропоетина [100]. Мерење концентрације селена у серуму и активности супероксид дигмутаза пружа могућност процене система антиоксидационе заштите [100].

Гвожђе примењено интравенски може да узрокује оксидациони стрес и оштећење липида, протеина и нуклеинских киселина ћелија, код болесника који се лече редовном хемодијализом. Мерење концентрације 8-OHdG (енгл. 8-hydroxy 2'-deoxyguanosine) у леукоцитима и лимфоцитима периферне крви је осетљив маркер оксидационог оштећења DNA [101]. Редовно понављана интравенска примена гвожђа, праћена је повећањем концентрације малондиалдехида у серуму (MDA) и садржајем 8-OHdG у лимфоцитима периферне крви, са феритина који је већи од 500 $\mu\text{g}/\text{l}$ [101]. Ризик од неповољног исхода, повећан је у интравенској примени гвожђе у дози $\geq 400 \text{ mg}$ /месечно, као и ако је феритина преко 800 [101, 102]. Директно токсично дејство је уколико се гвожђе примењује *i.v.* у месечној дози $\geq 400 \text{ mg}$ [101, 102]. Резултати до сада обављених испитивања показали су статистички значајну позитивну повезаност између концентрације феритина у серуму и концентрације CRP-a у серуму, као и статистички значајну позитивну повезаност између концентрације феритина у серуму и концентрације TBARS-a у серуму [103, 104]. Болесници с концентрацијом феритина у

серуму ≥ 800 ng/ml имају већу концентрацију CRP-а у серуму, него када је испод 800 ng/ml [104]. Вишак Fe у организму болесника подстиче липидну пероксидацију и повећава оксидациони стрес, а смањује активност антиоксидационих ензима. Утврђена је статистички значајна позитивна корелација између концентрације феритина у серуму и концентрације малондиалдехида у серуму [105]. Резултати спроведеног испитивања показали су да је мања активност каталазе у еритроцитима, са већом концентрацијом феритина. Код примене високих месечних доза гвожђа, потребан је индивидуални приступ дијализне прескрипције (мембране обложене витамином E, хемодијализација) [100–105].

Витамин B₁₂ је главни микронутриент за оптималну хематопоезу и метаболичку функцију кардиоваскуларног система. Атерогенеза је повезана са недостатком витамина B₁₂, преко хиперхомоцистеинемије [106, 107]. Резултати спроведеног истраживања показују да болесници с микроинфламацијом, имају значајно мању концентрацију витамина B₁₂ у серуму него болесници који немају микроинфламацију. Такође и код других аутора са резултатима постоји статистички негативна значајна повезаност између концентрације витамина B₁₂ и фактора туморске некрозе TNF α у серуму [107]. Контролом оптималне концентрације витамина B₁₂ у серуму, спречава се развој атеросклеротских болести кардиоваскуларног систем, индукованих микроинфламацијом [107].

7. ЗАКЉУЧЦИ

1. Појединачна сеанса on-line хемодијафилтрације с high-flux полисулфонском мембраном велике површине ($A \geq 2.0 \text{ m}^2$) која је обложена витамином Е статистички значајније утиче на параметре оксидационог стреса него појединачна сеанса on-line хемодијафилтрације с high-flux полисулфонском мембраном површине $\geq 2.0 \text{ m}^2$, која није обложена витамином Е.
2. После појединачне сеансе on-line хемодијафилтрације с мембраном обложеном витамином Е, статистички значајно се смањује концентрација реактивних супстанција везаних за тиобарбитуричну киселину (TBARS), док се активност супероксид дизмутазе (SOD) смањује код обе дијализне мембране, као последица појачаног губитка елемената у трагу, кофактора ензимских антиоксидативних система (супероксид дизмутаза).
3. On-line хемодијафилтрацију с high-flux полисулфонском мембраном која је обложена витамином Е треба примењивати у дужем периоду (три до шест месеци), уз одговарајућу процену капацитета антиоксидативне заштите у току лечења овим модалитетом дијализе.
4. За остваривање оптималне ефикасности лечења болесника, потребна је индивидуализација прескрипције on-line хемодијафилтрације.
5. Ултразвук каротидних артерија, мерење дебљине интима-медија (сITM) и откривање атеросклеротских плакова од великог су значаја за процену здравља укупне артеријске васкулатуре.
6. Оксидациони стрес и малнутриција имају важни чинилац у развоју атеросклерозе каротидних артерија код пацијената који користе редовну хемодијализу. Између дебљине интима-медија каротидних артерија и концентрације TBARS-а у серуму постоји статистички значајна позитивна повезаност, док је између концентрације SOD у еритроцитима и дебљине интима-медија каротидних артерија утврђена високо статистички значајна негативна повезаност.
7. Високо статистички значајна негативна повезаност између концентрације преалбумина и албумина у серуму и пречника интима-медија каротидних артерија указује на значај малнутриције у развоју атеросклерозе.
8. Оксидациони стрес и малнутриција, појединачно и у садејству, знатно доприносе развоју и убрзању атеросклерозе и повећању ризика од кардиоваскуларног морбидитета и морталитета код пацијента са редовном хемодијализом.

9. Оксидациони стрес, микроинфламација, малнутриција, недостатак витамина D и повећана концентрација феритина у серуму значајни су фактори ризика за развој отпорности на утицај еритропоетина код болесника који приступају констатној хемодијализи.
10. Резистенција на дејство краткоделујућег еритропоетина присутна је код 12.50% пацијената на редовној хемодијализи.
11. Болесници с резистенцијом на дејство краткоделујућег еритропоетина имају статистички знатно већу концентрацију феритина у серуму и статистички значајно мању концентрацију каталазе у еритроцитима.
12. Резистенција на дејство дугоделујућег еритропоетина заступљена је код 24 болесника (53.33%) који се лече редовном хемодијализом.
13. Болесници с резистенцијом на дејство дугоделујућег еритропоетина имају високо статистички значајно мању концентрацију преалбумина и витамина D у серуму, као и статистички значајно већу концентрацију CRP-а, супероксидног анјона и водоник-пероксида у серуму него болесници без резистенције.
14. Концентрација C-реактивног протеина у серуму јесте независан фактор ризика за резистенцију на дејство стимулатора еритропоезе.
15. Рано издвајање болесника код којих је већа ризичност од развоја отпорности на утицај еритропоетина, правовремена примена одговарајуће терапије и индивидуализација прескрипције дијализе, пружају могућност оптималне контроле оксидационог стреса, микроинфламације, малнутриције, недостатка витамина D и статуса гвожђа у организму болесника.
16. Оптимална контрола оксидационог стреса за последицу има боље лечење анемије, мању стопу кардиоваскуларног морбидитета и морталитета.
17. Пацијенти који користе хемодијафилтрацију имају статистички значајно мању концентрацију феритина у серуму, односно мањи степен функционалног недостатка гвожђа, него болесници који користе стандардну хемодијализу.
18. Пацијенти који користе хемодијафилтрацију имају високо статистички гледано већу концентрацију преалбумина у серуму, односно бољи статус нутриције, него болесници који се лече редовном стандардном хемодијализом.
19. Хемодијафилтрација је метода лечења која обезбеђује мањи степен малнутриције и већи степен искоришћавања гвожђа за синтезу хемоглобина у еритроцитима.
20. Пацијенти који примењују хемодијафилтрацију имају статистички гледано већу концентрисаност супероксид дизмутазе у еритроцитима, односно већи степен

антиоксидационе заштите, него болесници који се лече редовном стандардном хемодијализом.

21. Пацијенти са константном хемодијализом с концентрацијом феритина већом од 800 ng/ml имају статистички значајно мању активност каталазе еритроцитима (смањена антиоксидациона заштита).
22. Између дозе интравенског гвожђа и параметара оксидационог стреса није утврђена статистички значајна повезаност.
23. Пацијенти који су са константном хемодијализом с микроинфламацијом поседују статистички посматрано мању концентрацију витамина В₁₂ у серуму него болесници који немају микроинфламацију.
24. Између концентрације С-реактивног протеина у серуму и концентрације витамина В₁₂ у серуму постоји статистички значајна негативна повезаност.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Levey, A. S., Jong, P. E., Coresh, J., El Nahas, M., Astor, B. C., Matsushita, K., et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney Int* 2011; 80(1): 17–28.
2. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3(1): 1–150.
3. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Hemodialysis Adequacy: 2015 update. *Am J Kidney Dis* 2015; 66(5): 884–930.
4. Watanabe, Y., Kawanishi, H., Suzuki, K., Nakai, S., Tsuchida, K., Tabei, K., et al. Japanese Society for Dialysis Therapy Clinical Guideline for „Maintenance Hemodialysis: Hemodialysis Prescriptions”. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2015; 19(Suppl 1): 67–92.
5. Ronco, C., Clark, W. Hemodialysis membranes. *Nat Rev Nephrol* 2018; 14(6): 394–410.
6. Kohlova, M., Santos-Silva, A., Amorim, C., Montenegro, M. The biocompatibility and bioactivity of hemodialysis membranes: their impact in end-stage renal disease. *J Artif Organs* 2019; 22(1): 14–28.
7. Glorieux, G., Neirynek, N., Veys, N., Vanholder, R. Dialysis water and fluid purity: more than endotoxin. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(11): 4010–4021.
8. Tattersal, J. E., Ward, R. A. Online haemodiafiltration: definition, dose quantification and safety revisited. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(3): 542–550.
9. Chapdelaine, I., De Roij van Zuijewijn, C. L. M., Mostovaya, I. M., Levesque, R., Davenport, A., Blankestijn, P. J., et al. Optimization of the convection volume in online post-dilution haemodiafiltration: practical and technical issues. *Clin Kidney J* 2015; 8(2): 191–198.
10. De Roij van Zuijewijn, C. L. M., Chapdelaine, I., Nube, M. J., Blankestijn, P. J., Bots, M. L., Konings CJAM, et al. Achieving high concentration volumes in postdilution online hemodiafiltration: a prospective multicenter study. *Clin Kidney J* 2017; 10(6): 804–812.
11. Perez-Garcia, R., Alcazar, R. The dialyser in the year 2017: Much more than a membrane. *Nefrologia* 2018; 38(1): 4–7.
12. Marcelli, D., Scholz, C., Ponce, P., Sousa, T., Kopperschmidt, P., Grassmann, A., et al. High-Volume Postdilution Hemodiafiltration Is a Feasible Option in Rutine Clinical Practice. *Artif Organs* 2015; 39(2): 142–149.
13. Rosati, A., Ravaglia, F., Panichi, V. Improving Erythropoiesis Stimulating Agent Hyporesponsiveness in Hemodialysis Patients: The Role of Heparin and Hemodiafiltration Online. *Blood Purif* 2018; 45(1–3): 139–146.

14. Canaud, B., Barbieri, C., Marcelli, D., Bellocchio, F., Bowry, S., Mari, F., et al. Optimal convection volume for improving patient outcomes in an international incident dialysis cohort treated with online hemodiafiltration. *Kidney Int* 2015; 88(5): 1108–1116.
15. Canaud, B., Vienken, J., Ash, S., Ward, R. A. Hemodiafiltration to Address Unmet Medical Needs ESKD Patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018; 13(9): 1435–1443.
16. Ward, R. A., Vienken, J., Silverstein, D. M., Ash, S., Canaud, B. Regulatory for Hemodiafiltration in the United States. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018; 13(9): 1444–1449.
17. Wolley, M., Jardine, M., Hutchison, C. A. Exploring the Clinical Relevance of Providing Increased Removal of Large Middle Molecules. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018; 13(5): 805–814.
18. Vanholder, R., Pletinck, A., Schepers, E., Glorieux, G. Biochemical and Clinical Impact of Organic Uremic Retention Solutes: A Comprehensive Update. *Toxins* 2018; 10(1): 33. DOI: 10.3390/toxins10010033.
19. Massy, Z. A., Liabeuf, S. Middle-Molecule Uremic Toxins and Outcomes in Chronic Kidney Disease. Ronco C (ed). In: *Expanded Hemodialysis-Innovative Clinical Approach in Dialysis*. Contrib Nephrol. Basel, Karger 2017; 191: 8–17. DOI: 10.1159/000479252.
20. Haroon, S., Davenport, A. Choosing a dialyzer: What clinicians need to know. *Hemodialysis Int* 2018; 22(S2): 65–74. DOI: 10.1111/hdi.12702.
21. Wolley, M. J., Hutchison, C. A. Large uremic toxins: an unsolved problem in end-stage kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(1): 6–11. DOI: 10.1093/ndt/gfy179.
22. Garcia-Prieto, A., Vega, A., Linares, T., Abad, S., Macias, N., et al. Evaluation of the efficacy of a medium cut-off dialyser and comparison with other high-flux dialysers in conventional haemodialysis and online haemodiafiltration. *Clin Kidney J* 2018; 11(5): 742–746.
23. Kirsch, A. H., Lyko, R., Nilsson, L. G., Beck, W., Amdahl, M., Lechner, P., et al. Performance of hemodialysis with novel medium cut-off dialyzers. *Nephrol Dial Transplant* 2017; 32(1): 165–172.
24. Masakane, I., Sakurai, K. Current approaches to middle molecule removal: room for innovation. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(Suppl 3): 12–21.
25. Ronco, C., Marchionna, N., Brendolan, A., Neri, M., Lorenzin, A., Martinez Rueda, A. J. Expanded haemodialysis: from operational mechanisms to clinical results. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(Suppl 3): 41–47.
26. Zweigart, C., Boschetti-de-Fierro, A., Hulko, M., Nilsson, L. G., Beck, W., Storr, M., Krause, B. Medium cut-off membranes – closer to the natural kidney removal function. *Int J Artif Organs* 2017; 40(7): 328–334.
27. Cozzolino, M., Mangano, M., Stucchi, A., Ciceri, P., Conte, F., Galassi, A. Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(Suppl 3): 28–34.

28. Liakopoulos, V., Roumeliotis, S., Gorny, X., Dounousi, E., Mertens, P. R. Oxidative stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxidative Med Cell Long* 2017; doi: 10.1155/2017/3081856.
29. Libetta, C., Sepe, V., Esposito, P., Galli, F., Dal Canton, A. Oxidative stress and inflammation: Implications in uremia and hemodialysis. *Clin Biochem* 2011; 44814–44815): 1189–1198. DOI: 10.1016/j.clinbiochem. 2011.06.988.
30. Wu, C. C., Chen, J. S., Wu, W. M., Liao, T. N., Chu, P., Lin, S. H., et al. Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single hemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 2005, 20(6): 1134–1139.
31. Ward, R. A. Ultrapure Dialysate. *Semin Dial* 2004; 17(6): 489–497.
32. Aziz, M. A., Majeed, G. H., Diab, K. S., Al-Tamimi, R. J. The association of oxidant-antioxidant status in patients with chronic renal failure. *Ren Fail* 2016; 38(1): 20–26.
33. Handelman, G. J. Vitamin C deficiency in dialysis patients – are we perceiving the tip of an iceberg? *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(2): 328–331.
34. Zalba, G., Fortuño, A., Diez, J. Oxidative stress and atherosclerosis in early chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(10): 2686–2690.
35. Massy, Z. A. Importance of homocystein, lipoprotein (a) and non-classical cardiovascular risk factors (fibrinogen, and advanced glycation end-products) for atherogenesis in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(Suppl 5): 81–91.
36. Culleton, B. F., Bostom, A. G. Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. In: *Cardiovascular Disease in End-stage Renal Failure*. Loscalzo J, London GM, (eds). The Oxford University Press, New York, 2000: 211–228.
37. Kielstein, J. T., Frölich, J. C., Haller, H., Fliser, D. ADMA (asymmetric dimethylarginine): an atherosclerotic disease mediating agent in patient with renal disease? *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(9): 1742–1745.
38. Lacson, E., Levin, N. W. C-Reactive Protein and End-Stage Renal Disease. *Semin Dial* 2004; 17(6): 438–448.
39. Akchurin, O. M., Kaskel, F. Update on Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Blood Purif* 2015; 39(1): 84–92.
40. Liakopoulos, V., Roumeliotis, S., Zarogiannis, S., Eleftheriadis, T., Mertens, P. R. Oxidative stress in hemodialysis: Causative mechanisms, clinical implications, and possible therapeutic interventions. *Semin Dial* 2019; 32(1): 58–71.
41. Zhang, K. Y., Zuo, L. Vitamin C supplementation in patients on maintenance dialysis. *W J Clin Urol* 2014; 3(3): 344–350.
42. Coombes, J. S., Fassett, R. G. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int* 2012; 81(3): 233–246.

43. Gokbel, H., Atalay, H., Okudan, N., Solak, Y., Belviranil, M., Turk, S. Coenzyme Q10 and its Relation with Oxidant and Antioxidant System Markers in Patients with End-Stage Renal Disease. *Ren Fail* 2011; 33(7): 677–681.
44. Den Hoedt, C. H., Bots, M. L., Grooteman, M. P. C., Der Weerd, N. C., Mazairac, A. H. A., Penne, E. L., et al. Online hemodiafiltration reduces systemic inflammation compared to low-flux hemodialysis. *Kidney Int* 2014; 86(2): 423–432.
45. Panichi, V., Scatena, A., Rosati, A., Giusti, R., Ferro, G., Malagnino, E., et al. High-volume online hemodiafiltration improves erythropoiesis-stimulating agents (ESA) resistance in comparison with low-flux bicarbonate dialysis: results of the REDERT study. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(4): 682–689.
46. Tarng, D. C., Huang, T. P., Liu, T. Y., Chen, H. W., Sung, Y. J., Wei, Y. H. Effect of vitamin E-bonded membrane on the 8-hydroxy 2,-deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 58: 790–799.
47. Andrulli, S., Di Filippo, S., Manzoni, C., Stefanelli, L., Floridi, A., Galli, F., Locatelli, F. Effect of synthetic vitamin E-bonded membrane on responsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients: a pilot study. *Nephron Clin Pract* 2010; 115(1): 82–89.
48. Panagiotou, A., Nalesso, F., Zanella, M., Brendolan, A., De Cal, M., Cruz, D., et al. Antioxidant Dialytic Approach with Vitamin E-Coated Membranes. In: Ronco C, Rosner MH. Eds. *Hemodialysis: New Methods and Future Technology*. Contrib Nephrol. Basel, Karger, 2011; 171: 101–106.
49. Panichi, V., Rosati, A., Paoletti, S., Ferrandello, P., Migliori, M., Beati, S., Bernabini, G., et al. A vitamin E-coated polysulphone membrane reduces serum levels of inflammatory markers and resistance to erythropoietin-stimulating agents in hemodialysis patients: results of a randomized cross-over multicenter trial. *Blood Purif* 2011; 32(1): 7–14.
50. Yang, S. K., Xiao, L., Xu, B., Xu, X. X., You, F., Liu, F. Y., Sun, L. Effects of vitamin E-coated dialyzer on oxidative stress and inflammation status in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail* 2014; 36(5): 722–731.
51. Yamadera, S., Nakamura, Y., Inagaki, M., Ohsawa, I., Gotoh, H., Goto, Y., Sato, N., et al. Vitamin E-Coated Dialyzer Inhibits Oxidative Stress. *Blood Purif* 2017; 44(4): 288–293.
52. D'Arrigo, G., Baggetta, R., Tripepi, G., Galli, F., Bolignano, D. Effects of vitamin E-Coated versus Conventional Membranes in Chronic Hemodialysis Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Blood Purif* 2017; 43(1-3): 101–122.
53. Locatelli, F., Andrulli, S., Vigano, S. M., Concetti, M., Urbini, S., Giacchino, F., et al. Evaluation of the Impact of a New Synthetic Vitamin E-Bonded Membrane on the Hypo-Responsiveness to the Erythropoietin Therapy in Hemodialysis Patients: A Multicenter Study. *Blood Purif* 2017; 43(4): 338–345.
54. Fishbane, S., Singh, A. K., Cournoyer, S. H., Jindal, K. K., Fanti, P., Guss, C. G., et al. Ferric pyrophosphate citrate (TrifericTM) administration via the dialysate maintains

- hemoglobin and iron balance in chronic hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(12): 2019–2026.
55. Gupta, A., Lin, V., Guss, C., Pratt, R., Ikizler, A., Besarab, A. Ferric pyrophosphate citrate administered via dialysate reduces erythropoiesis-stimulating agent use and maintains hemoglobin in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2015; 88(5): 1187–1194.
 56. Shah, H. H., Hazzan, A. D., Fishbane, S. Ferric Pyrophosphate Citrate: A Novel Iron Replacement Agent in Patients Undergoing Hemodialys. *Semin Nephrol* 2016; 36(2): 124–129.
 57. Fishbane, S., Shah, H. H. Ferric pyrophosphate citrate as an iron replacement agent for patients receiving hemodialysis. *Hemodialysis Int* 2017; 21(Suppl 1): 104–109.
 58. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2012; 2(4): 283–35.
 59. Kanbay, M., Perazella, M. A., Kasapoglu, B., Koroglu, M., Covic, A. Erythropoiesis Stimulatory Agent-Resistant Anemia in Dialysis Patients: Review of Causes and Management. *Blood Purif* 2010; 29(1): 1–12.
 60. Badve, S. V., Beller, E. M., Cass, A., Francis, D. P., Hawley, C., Macdougall, I. C., et al. Interventions for erythropoietin-resistant anaemia in dialysis patients. *Cochrane Database of Systematic Review* 2013; 8: DOI: 10.1002/14651858.CD006861.pub3.
 61. Berns, J. S. Interpretation of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes guidelines for iron therapy: commentary and emerging evidence. *Clin Kidney J* 2017; 10(Suppl 1): 3–8.
 62. Roger, S. D. Practical considerations for iron therapy in the management of anemia in patients with chronic kidney disease. *Clin Kidney J* 2017; 10(Suppl 1): 9–15.
 63. Icardi, A., Paoletti, E., De Nicola, L., Mazzaferro, S., Russo, R., Cozzolino, M. Renal anemia and EPO hyporesponsiveness associated with vitamin D deficiency: the potential role of inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(7): 1672–1679.
 64. Mousavi, S. S. B., Shahbazian, H., Tamadon, M. R. Association of secondary hyperparathyroidism with anemia in patients with end-stage renal disease; a review on current knowledge. *J Parath Dis* 2016; 4(2): 48–53.
 65. Macdougall, I. C., Roger, S. D., De Francisko, A., Goldsmith, D. J. A., Schellekens, H., Ebberts, H., et al. Antibody-mediated pure red cell aplasia in chronic kidney disease patients receiving erythropoiesis-stimulating agents: new insights. *Kidney Int* 2012; 81(8): 727–732.
 66. Den Hoedt, C. H., Bots, M. L., Grooteman, M. P. C., Der Weerd, N. C., Mazairac, A. H. A., Penne, E. L., et al. Online hemodiafiltration reduces systemic inflammation compared to low-flux hemodialysis. *Kidney Int* 2014; 86(2): 423–432.
 67. Yamamoto, S. Molecular mechanisms underlying uremic toxin-related systemic disorders in chronic kidney disease: focused on β 2-microglobulin-related amyloidosis and indoxyl

- sulfate-induced atherosclerosis-Oshima Award Address 2016. *Clin Experimental Nephrol* 2019; 23: 151–157.
68. Scarpioni, R., Ricardi, M., Albertazzi, V., De Amicis, S., Rastelli, F., Zerbini, L. Dialysis-related amyloidosis: challenges and solutions. *Int J Nephrol Ren Vascular* 2016; 9: 319–328. DOI: 10.2147/IJNRD.S84784.
 69. Tain, Y. L., Hsu, C. N. Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins* 2017; 9: 92. DOI: 10.3390/toxins9030092.
 70. Wang, F., Xiong, R., Feng, S., Lu, X., Li, H., Wang, S. Association of Circulating Levels of ADMA with Carotid Intima-Media Thickness in Patients with CKD: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Kidney Blood Press Res* 2018; 43(1): 25–33.
 71. Collado, S., Coll, E., Nicolau, C., Pons, M., Cruzado, J. M., Pascual, J., Cases, A. Carotid Atherosclerosis Disease Predicts Cardiovascular Events in Hemodialysis Patients: A Prospective Study. *Plos ONE* 2015; 10(6): e0127344. DOI: 10.1371/journal.pone.0127344.
 72. Ling, X. C., Kuo, K. L. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Ren Replacement Ther* 2018; 4: 53.
 73. Krata, N., Zagozdzon, R., Foroniewicz, B., Mucha, K. Oxidative Stress in Kidney Disease: The Cause or the Consequence? *Arch Immunol Ther Exp* 2018; 66(3): 211–220.
 74. Antić, S., Draginić, N., Nikolić, T., Jeremić, N., Petrović, D. Oxidative stress in hemodialysis patients: pathophysiological mechanisms, clinical consequences and basic principles of treatment. *Ser J Exp Clin Res* 2019; DOI: 10.2478/sjecr-2019-0008.
 75. Varan, H. I., Dursun, B., Dursun, E., Ozben, T., Ozben, G. Acute effects of hmodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: Comparison of two dialysis membranes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2010; 3: 39–45.
 76. Yavuz, O., Bicik Z., Cinar, Y., Guney, Y., Guler, S. The effect of different dialysis membranes on oxidative stress and selenium status. *Clin Chim Acta* 2004; 346(2): 153–160.
 77. Ward, R. A., Ouseph, R., McLeish, K. R. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int* 2003; 63(1): 353–359.
 78. Blankestijn, P. J., Grooteman, M. P., Nube, M. J., Bots, M. L. Clinical evidence on haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(Suppl 3): 53–58. DOI: 10.1093/ndt/gfy218.
 79. Ronco, C.. Hemodiafiltration: Technical and Clinical Issues. *Blood Purif* 2015; 40(Suppl 1): 2–11.
 80. Antić, S., Draginić, N., Pilčević, D., Živković, V., Srejšević, I., Jeremić, N., Petrović, D., Jakovljević, V. The influence of vitamin E coated dialysis membrane on oxidative stress during the single session of on-line hemodiafiltration. *Vojnosanit Pregl* 2019; DOI: 10.2298/VSP190730097A.

81. Akiyama, S., Inagaki, M., Tsuji, M., Gotoh, H., Gotoh, T., Washio, K., et al. Comparison of effect of vitamin E-coated dialyzer and oral vitamin E on hemodialysis-induced Cu/Zn-superoxide dismutase. *Am J Nephrol* 2005; 25(5): 500–506.
82. Nakamura, Y., Inagaki, M., Kenmotsu, S., Yamadera, S., Ohsawa, I., Gotoh, H., et al. Significance of Cu/Zn-Superoxide Dismutase Levels in Hemodialysis Patients: A Mini Review. *M Res Inflamm* 2017; 6(2): 9–13.
83. Torregosa, E., Jaras, H., Sastre, J., Pons, R., Calvo, H. G., Gordo, C. C., et al. Analysis of oxidative stress in patients on-line hemodiafiltration. *Nefrologia* 2007; 27(5): 612–618.
84. Singer, R. F. Vitamin C supplementation in kidney failure: effect on uraemic symptoms. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(2): 614–620.
85. Coombes, J. S., Fassett, R. G. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int* 2012; 81(3): 233–246.
86. Kosmadakis, G., DaCosta Correia, E., Odette Carceles, O., Somda, F., Aguilera, D. Vitamins in dialysis: who, when and how much? *Ren Fail* 2014; 36(4): 638–650.
87. Wang, L. J., Wang, M. Q., Hu, R., Yang, Y., Huang, Y. S., Xian, S. X., et al. Effect of Zinc Supplementation on Maintenance Hemodialysis Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of 15 Randomized Controlled Trials. *Biomed Res Int* 2017; doi: 10.1155/2017/1024769.
88. Mazani, M., Argani, H., Rashtchizadeh, N., Ghorbanihaghjo, A., Hamdi, A., Estiar, M. A., Nezami, N. Effect of zinc supplementation on antioxidant status and lipid peroxidation in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2013; 23(3): 180–184.
89. Kato, A., Takita, T., Maruyama, Y., Kumagal, H., Hishida, A. Impact of carotid atherosclerosis on long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2003; 64(4): 1472–1479.
90. Dursun, B., Dursun, E., Suleymanlar, G., Ozben, B., Capraz, I., Apaydin, A., et al. Carotid artery intima-media thickness correlates with oxidative stress in chronic haemodialysis patients with accelerated atherosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(5): 1697–1703.
91. Ari, E., Kaya, Y., Demir, H., Cebi, A., Hakan, H., Bakan, E., et al. Oxidative DNA damage correlates with carotid artery atherosclerosis in hemodialysis patients. *Hemodialysis Int* 2011; 15(4): 453–459.
92. Betriu-Bars, A., Fernandez-Giraldez, E. Carotid ultrasound for the early diagnosis of atherosclerosis in chronic kidney disease. *Nefrologia* 2012; 32(1): 7–11.
93. La Russa, D., Pellegrino, D., Montesanto, A., et al. Oxidative Balance and Inflammation in Hemodialysis Patients: Biomarkers of Cardiovascular Risk? *Oxidative Med Cell Long.* 2019; 2019: 8567275. DOI: 10.1155/2019/8567275.
94. Danielski, M., Ikizler, T. A., McMonagle, E., et al. Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(2): 286–294.

95. Gosmanova, E. O., Le, N. A. Cardiovascular Complications in CKD Patients: Role of Oxidative Stress. *Cardiol Res Pract* 2011; 2011: 156326. DOI: 10.4061/2011/156326.
96. Khalil, S. K. M., Amer, H. A., Behairy, A. M. E., Warda, M. Oxidative stress during erythropoietin hyporesponsiveness anemia at end stage renal disease: Molecular and biochemical studies. *J Adv Res* 2016; 7(3): 348–358. DOI: 10.1016/j.jare.2016.02.004.
97. Santos, E. J. F., Hortegal, E. V., Serra, H. O., Lages, J. S., Salgado-Fiho, N., Dos Santos, A. M. Epoetin alfa resistance in hemodialysis patients with chronic kidney disease: a longitudinal study. *Braz J Med Biol Res* 2018; 51(7): e7288. DOI: 10.1590/1414-431X20187288.
98. Rattanasompattikul, M., Molnar, M. Z., Zaritsky, J. J., Hatamizadeh, P., Jing, J., Norris, K. C., et al. Association of malnutrition-inflammation complex and responsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in long-term hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(7): 1936–1945. DOI: 10.1093/ndt/gfs368.
99. Maruyama, T., Higuchi, T., Yamazaki, T., Okawa, E., Ando, H., Oikawa, O., et al. Levocarnitine Injections Decrease the Need for Erythropoiesis-Stimulating Agents in Hemodialysis Patients with Renal Anemia. *Cardiorenal Med* 2017; 7(3): 188–197. DOI: 10.1159/000462983.
100. Manolov, V., Yonova, D., Bogov, B., Petrova, J., Vasilev, V., Vazellov, E., et al. Hepcidin, Selenium and Superoxide Dismutase in Oxidative Stress and in Dialysis Patients. *J Urol Nephrol* 2017; 2(1): 000117.
101. Kuo, K. L., Hung, S. C., Wei, Y. H., Tarng, D. C. Intravenous Iron Exacerbates Oxidative DNA Damage in Peripheral Blood Lymphocytes in Chronic Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19(9): 1817–1826.
102. Karaboyas, A., Morgenstern, H., Pisoni, R. L., Zee, J., Vanholder, R., Jacobson, S. H., et al. Association between serum ferritin and mortality: findings from the USA, Japan and European Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(12): 2234–2244.
103. Murillo-Ortiz, B., Emiliano, J.R., Vasquez, H. W. I., Martinez-Garza, S., Solorio-Meza, S., Albarran-Tamayo, F., et al. Impact of Oxidative Stress in Premature Aging and Iron Overload in Hemodialysis Patients. *Oxidative Med Cell Longev* 2016; DOI: 10.1155/2016/1578235.
104. Senol, E., Ersoy, A., Erdinc, S., Sarandol, E., Yurtkuran, M. Oxidative stress and ferritin levels in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(2): 665–672.
105. Pedruzzi, L. M., Cardozo, L. F., Medeiros, R. F., Stockler-Pinto, M. B., Mafra, D. Association between serum ferritin and lipid peroxidation in hemodialysis patients. *J Bras Nefrol* 2015; 37(2): 171–176.
106. Capelli, I., Cianciolo, G., Gasperoni, L., Zappulo, F., Tondolo, F., Cappuccilli, M., et al. Folic Acid and Vitamin B12 Administration in CKD, Why Not? *Nutrients* 2019; 11(2): E383. DOI: 10.3390/nu11020383.

107. Al-Daghri, N. M., Rahman, S., Sabico, S., Yakout, S., Wani, K., Al-Attas, O. S., et al. Association of Vitamin B12 with Pro-Inflammatory Cytokines and Biochemical Markers Related to Cardiometabolic Risk in Saudi Subjects. *Nutrients* 2016; 8(9): 460. DOI: 10.3390/nu8090460.

9. ДОДАТАК

СКРАЋЕНИЦЕ

ADMA: Asymmetric dimethylarginine
AGEs: Advanced glycation end products
AOPPs: Advanced oxidation protein products
AT: Alpha-tocopherol
CAC: Coronary artery calcification score
CIMT: Carotid intima-media thickness
CKD: Chronic kidney disease
CVD: Cardiovascular disease
DM: Diabetes mellitus
EGFR: Estimated glomerular filtration rate
EPA: Eicosapentaenoic acid
ESA: Erythropoiesis-stimulating agent
ESRD: End-stage renal disease
GDPs: Glycose degradation products
GSH-Px: Glutathione peroxidase
GSH: Reduced glutathione
GSSG: Oxidized glutathione
H₂O₂: Hydrogen peroxide
HD: Hemodialysis
HDL: High-density lipoprotein
Hs-CRP: High-sensitive C-reactive protein
IL-6: Interleukin-6
LDL: Low-density lipoprotein
MDA: Malondialdehyde
MPO: Myeloperoxidase
NAC: n-Acetylcysteine
NO: Nitric oxide
O₂⁻: Superoxide anion radical
ONOO⁻: Peroxynitrite
OS: Oxidative stress
Ox-LDL: Oxidized LDL
8-OHdG: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine
PCOOH: Phosphatidylcholine hydroperoxide
PD: Peritoneal dialysis
PMNs: Polymorphonuclear white blood cells
RBC: Red blood cell
ROS: Reactive oxygen species
RRF: Residual renal function
SOD: Superoxide dismutase
TAC: Total antioxidant capacity
TBARS: Thiobarbituric acid-reactive substances
TNF: Tumor necrosis factor
VECM: Vitamin E-coated membrane.

ПРИЛОГ 1

Табела 1. Формуле за израчунавање параметара испитивања

Параметар	Формула
BMI (kg/m ²)	$BMI = TM (kg)/TV (m^2)$
nPCR (g/kg/24h)	$nPCR = (PCR \times 0.58)/Vd$
	$PCR = 9.35G + 0.29V$
	$G = [(C1-C2)/Id] \times Vd$
	$Vd = 0.58 \times TM$
Kt/V	$Kt/V = \ln(C1/C2)$
spKt/V	$spKt/V = -\ln(C2/C1 - 0.008 \times T) + (4 - 3.5 \times C2/C1) \times UF/W$
eKt/V	$eKt/V = spKtV - (0.47 \times spKtV/T) + 0.03$
URR (%)	$URR = (1-R) \times 100 (\%)$

BMI – индекс телесне масе (kg/m²), TM – телесна маса (kg), TV – телесна висина (m²), PCR – брзина разградње протеина (g/kg/24h), G – степен стварања уреје, C1 – концентрација уреје пре хемодијализе (mmol/l), C2 – концентрација уреје после хемодијализе (mmol/l), Id – време између две хемодијализе (h), Vd – запремина течности која се налази у организму (l), T – трајање хемодијализе (h), K – клиренс дијализатора за уреју (ml/min), t – трајање појединачне сесије хемодијализе (h), V – волумен дистрибуције уреје (ml), spKt/V – „single-pool” Kt/V (уреа кинетички једнопросторни модел), eKt/V – „double pool” Kt/V (уреа кинетички двопросторни модел).

БИОГРАФИЈА

Др Светлана Антић рођена је 27.02.1976. године у Београду. Основну школу а затим и средњу медицинску школу завршила је у Београду. Медицински факултет у Београду уписала је 1996. године, а дипломирала 2003. године, чиме је стекла академски назив доктора медицине. Специјализацију из интерне медицине уписала је 2005. године, а 2010. године у Београду положила је специјалистички испит из интерне медицине, чиме је стекла стручни назив специјалисте интерне медицине. Докторске студије из Експерименталне и клиничке интерне медицине уписала је 2012. године на Медицинском факултету у Крагујевцу и положила усмени докторски испит маја 2019. године. Тема докторске дисертације под називом „Процена оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом“, прихваћена је октобра 2019. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Ужу специјализацију из Нефрологије завршила је 2016. године на Медицинском Факултету Универзитета одбране Војномедицинске академије у Београду, чиме је стекла звање специјалисте нефрологије. Члан је Удружења нефролога Србије и Европског удружења нефролога. Говори енглески језик.

БИБЛИОГРАФИЈА

Рад у међународном часопису (M23)

1. **Antić S**, Draginić N, Pilčević D, Živković V, Srejović I, Jeremić N, Petrović D, Jakovljević V. The influence of vitamin E coated dialysis membrane on oxidative stress during the single session of on-line hemodiafiltration. *Vojnosanit Pregl* 2019; DOI: 10.2298/VSP190730097A

2. Rabrenović V, Mijušković Z, Marjanović S, Rabrenović M, Jovanović D, **Antić S**, et al. Kidney failure as an unusual initial presentation of biclonal gammopathy (IgD multiple myeloma associated with light chain disease): A case report. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72(2): 196-9.

3. Petrović M, Rabrenović V, Stamenković D, Vavić N, Kovačević Z, Ignjatović LJ, Jovanović D, **Antić S**, et al. Specificities of transplantation of kidneys procured from donors with situs inversus totalis - A case report and review of literature. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72(1): 63-7.

4. Pilčević D, Rančić N, Jović, Rabrenović v, **Antić S**, et al. Diagnostic importance of cystatin C and creatinine for contrast- induced acute kidney injury. *Vojnosanitetski pregl* 2019; doi:10.2298/VSP190418075P.

5. Rabrenović V, Ćulafić S, Rabrenović M, Dragović T, Trešnjić S, Mašić S, Matunović R, **Antić S**, et al. Intracranial aneurysm as extrarenal manifestation of polycystic kidney disease – A case report. *Vojnosanit. Pregl* 2018;75(5):525-30

Рад у водећем часопису националног значаја (M51)

1. **Antić S**, Draginić N, Nikolić T, Jeremić N, Petrović D. Oxidative stress in hemodialysis patients: pathophysiological mechanisms, clinical consequence and basic principles of treatment. *Ser J Exp Clin Res* 2019; DOI: 10.2478/sjecr-2019-0008.

2. **Antić S**, Draginić N, Jovanović M, Nikolić T, Jeremić N, Živković V, Srejović I, Petrović D, Jakovljević V. The relation between oxidative stress and carotid artery atherosclerosis in hemodialysis patients. *Ser J Exp Clin Res* 2019; DOI: 10.2478/sjecr-2019-0052.

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)

1. Pilcevic D, Maksic D, Terzic B, **Antic S**, Petrovic M, Rabrenovic V, Petrovic M, Mijuskovic M, Tadic J, Radojevic M. Changing the PD profile of peritonitis in our patients – is the time for the different therapeutic approach? Abstract book of 14th European Peritoneal Dialysis Meeting, Ljubljana, Slovenia, 02-05 May 2019; P-123.
2. Pilcevic D, Maksic D, Terzic B, **Antic S**, Petrovic M, Petrovic M, Mijuskovic M, Rabrenovic V, Radojevic M, Ignjatovic L. Dedicate approach to patients-fundamental for the successful improvement of peritoneal dialysis program. Abstract book of 14th European Peritoneal Dialysis Meeting, Ljubljana, Slovenia, 02-05 May 2019; P-20.
3. Pilčević D, Maksic D, **Antic S**, Terzic B, Mijuskovic M, Petrovic M, Rabrenovic V. Hypokalemia as a marker of poor outcome in peritoneal dialysis – related peritonitis. Proceedings of the 14th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs, Budva, Montenegro, 2018 September 20-23; D 02.
4. Pilcevic D, Maksic D, **Antic S**, Terzic B, Mijuskovic M, Petrovic M, Rabrenovic V. Interactive approach as a key factor in successful implementation of peritoneal dialysis program. Proceedings of the 4th Congress of Mediterranean Kidney Society; Mostar, Bosnia and Herzegovina, 2018 April 20-22. D3.
5. Pilčević D, Maksic D, Terzic B, **Antic S**, Rabrenovic V, Mijuskovic M, Petrovic M, Ignjatovic Lj. Optimization of program of peritoneal dialysis in our hospital. Abstract book of 13th European Peritoneal Dialysis Meeting, Dublin, Ireland, 04-07 October 2017; 87: MPS-154.
6. Pilčević D, Maksic D, Terzic B, **Antic S**, Rabrenovic V, Mijuskovic M, Petrovic M. Hyponatremia as a marker of poor outcome in peritoneal dialysis – related peritonitis. Abstract book of 13th European Peritoneal Dialysis Meeting, Dublin, Ireland, 2017 October 04-07; 116; MPS-202.
7. Pilcevic D, Maksic D, Jovanovic D, Tadic-Pilcevic J, Mijuskovic M, Petrovic M, Obrencevic K, **Antic S**, Rabrenovic V, Ignjatovic Lj. Moraxella species related CAPD peritonitis. Proceedings of the 15th Congress of International society for Peritoneal dialysis; Madrid, Spain; 2014 September 7-10; P-174.
8. Petrovic M, Rabrenovic V, Kovacevic Z, Jovanovic D, **Antic S**, Vavic N, Ignjatovic L, Radojevic M, Tomic A, Savic D, Milovic N, Stamenkovic D, Terzic B, Mijuskovic M, Pilcevic D. Preemptive kidney transplantation from donor complete organ inversion – case report. BANTAO Journal 2013;11(Suppl 1):57-58. PP58.
9. **Antic S**, Rabrenovic V, Kovacevic Z, Jovanovic D, Petrovic M, Antic A, Ignjatovic Lj, Pilcevic, Tadic-Pilcevic J, Savic D, Cukic Z. The lumbar pain as an initial symptom of the Gaucher disease – the presentation of this rare metabolic disease. BANTAO Journal 2013;11(Suppl 1): 68. PP83.
10. Rabrenovic V, Kovacevic Z, Jovanovic D, **Antic S**, Petrovic M, Mijuskovic Z, Marjanovic S, Ignjatovic Lj, Pilcevic D, Tadic-Pilcevic J, Savic D, Cukic Z. Kidney failure as an

unusual initial presentation biklonale gammopathy (IGD multiple myeloma associated with light chain deposition disease)- a case report. BANTAO Journal 2013;11(Suppl 1):72. PP 91.

11. Rabrenovic V, Kovacevic Z, Jovanovic D, Rabrenovic M, **Antić S**, Petrovic M, Ignjatovic Lj, Pilcevic D, Terzic B, Cukic Z, Tadic-Pilcevic J, Petrovic M, Mijuskovic M, Pejovic J. Urinary Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin at patients with lupus nephritis type IV - comparison with other parameters of disease activity. Nephrol Dial Transplant 2015;30(suppl 3):iii121.

12. Petrovic M, Lepić T, Žunić G, Petrović D, Jovanović D, Bokonjić D, Grdinić A, Terzić B, Rabrenović V, **Antić S**, Mijušković M, **Pilčević D**, Pejović J. Analysis of risk factors for the development of atherosclerosis in the chronic kidney disease. BANTAO J 2015;13(suppl 1):23.

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64):

1. Pilčević D, Maksić Đ, **Antić S**, Terzić B, Mijušković M, Petrović M, Rabrenović V, Ignjatović Lj, Jovanović D. Korelacija koncentracija CA 125 antigena i proteina iz PD efluenta sa ishodom CAPD peritonitisa. Knjiga sažetaka 4. Kongres nefrologa Srbije 2016; 16. Usmena izlaganja

2. Rabrenović V, Kovačević Z, Ignjatović Lj, **Antić S**, Petrović M, Mijušković Z, Marjanović S, Pilčević D. Bubrežna insuficijencija kao inicijalna simptomatologija biklonalne gamopatije- IgD mijelomai Bence Jonsove paraproteinemije – prikaz slučaja. Knjiga sažetaka 2. Kongresa nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012; P 04.

Поглавље у књизи М 41

1. Pilčević D, Kovačević Z, Rabrenović V, **Antić S**. Druge primarne glomerulske bolesti (fibrilarni glomerulonefritis, nefropatija tankih bazalnih membrana, lipoproteinska glomerulopatija, IgM nefropatija, C1q nefropatija). U: Terapija primarnih glomerulonefritisa. Urednik Maksić Đ., 2019. (Beograd: Unagraf).

Acknowledgments: Authors would like to express their deepest gratitude to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for the Grant N⁰175014 and also to the Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for their Junior Grant N⁰02/19 from which the funds were used as one of the sources to financially support this paper.

ПРИЛОГ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број - РБ:

Идентификациони број - ИБР:

Тип документације - ТД: Монографска публикација

Тип записа - ТЗ: Текстуални штампани материјал

Врста рада - ВР: Докторска дисертација

Аутор - АУ: Антић Светлана

Ментор/коментор - МН: др. сци.мед. Дејан Петровић, редовни професор

Наслов рада - НР: Процена оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом.

Језик публикације - ЈП: Српски/ Ћирилица

Језик извода - ЈИ: Српски/ Енглески

Земља публикавања - ЗП: Србија

Уже географско подручје - УГП: Централна Србија, Шумадија

Година - ГО: 2020

Издавач - ИЗ: Ауторски репринт

Место и адреса - МС: 34000 Крагујевац, Светозара Марковића 69

Физичи опис рада - ФО: 118 стране, 9 поглавља, 6 шема, 37 табеле, 107 цитиране библиографске јединице

Научна област - УДК: Медицина

Научна дисциплина - ДИ: Експериментална и клиничка интерна медицина

Предметна одредница/ кључне речи - ПО: оксидативни стрес, хемодијација, дијализна мембрана

Чува се - ЧУ: У библиотеци Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

Важна напомена- МН:

Извод - ИД: АПСТРАКТ

Увод: Кардиоваскуларне болести су водећи узрок смрти болесника који се лече редовном хемодијализом. Оксидациони стрес је нетрадиционални фактор ризика за развој кардиоваскуларних болести у овој популацији болесника. Главни узроци развоја оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом су:

биокомпатибилност дијализне мембране, присуство ендотоксина у раствору за хемодијализу и смањена активност антиоксидационих ензима. У главне клиничке последице оксидационог стреса спадају развој и убрзање процеса атеросклерозе, развој анемије и резистенција на дејство еритропоетина, малнутриција и амилоидоза повезана са хемодијализом. **Циљ рада:** процена утицаја дијализне мембране и модалитета дијализе на развој оксидационог стреса, процена утицаја микроинфламације и малнутриције на развој оксидационог стреса, као и процена утицаја оксидационог стреса на развој атеросклерозе и резистенције на дејство еритропоетина. **Метод:** У раду је испитано 125 болесника који се лече редовном хемодијализом уз поштовање Хелсиншке декларације о медицинским истраживањима и Добре клиничке праксе. Груписање болесника је учињено на основу клиничких параметара у складу са циљевима истраживања. **Резултати:** Болесници који се лече редовном on-line хемодијафилтрацијом са „high-flux“ мембраном која је обложена витамином Е имају статистички значајно мању концентрацију реактивних супстанција везаних за тиобарбитурну киселину (TBARS). Између дебљине интима-медија каротидних артерија и концентрације TBARS-а у серуму постоји статистички значајна позитивна повезаност, док између концентрације SOD у еритроцитима и дебљине интима-медија каротидних артерија високо статистички значајна негативна повезаност. Болесници са резистенцијом на дејство дугodelујућег еритропоетина имају високо статистички значајно мању концентрацију преалбумина и витамина D у серуму, као и статистички значајно већу концентрацију CRP-а, супероксидног анјона и водоник пероксида у серуму. Микроинфламација је независан фактор ризика за развој резистенције на дејство еритропоетина. **Закључак:** Мембране за хемодијализу обложене витамином Е смањују концентрацију параметара липидне пероксидације у серуму, као што су: малондиалдехид (MDA), реактивне супстанције везане за тиобарбитурну киселину (TBARS) и оксидовани LDL холестерол (oxLDL). Испитивања показују да ове мембране смањују и концентрацију параметара оксидационог оштећења нуклеинских киселина, као што је 8-OHdG, као и концентрацију параметара микроинфламације (CRP, интерлеукин-6). Ове мембране обезбеђују добру контролу функције леукоцита, испољавају антиоксидационо и антиинфламаторно дејство. „High-flux“ хемодијализа и хемодијафилтрација са полисулфонском мембраном и мембраном обложеном витамином Е смањује атеросклерозу, амилоидозу повезану са хемодијализом, индекс резистенције на дејство еритропоетина и поправља лечење анемије у популацији

болесника који се лече редовном хемодијализом. **Кључне речи:** Хемодијалфилтрација, оксидациони стрес, дијализна мембрана

Датум прихватања теме од стране ННВ - ДП:

Датум одбране - ДО:

Чланови комисије - КО:

Др сци. мед. Ђоко Максић, редовни професор, председник комисије;

Др сци. мед Владимир Живковић, ванредни професор, члан;

Др сци. Исидора Милисављевић, доцент, члан.

KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

Accession number - ANO:

Identification number - INO:

Documentation type - DT: Monographic publication

Type of record - TR: Textual printed material

Contents code - CC: PhD Thesis

Author - AU: Svetlana Antić, M.D.

Menthor/co-mentor - MN: Professor Dejan Petrović, M.D.Ph.D

Title - TI: Assessment of oxidative stress in patients treated with regular hemodialysis

Language of text - LT: Serbian

Language of abstract: Serbian / English

Country of publication - CP: Serbia

Locality of publication - LP: Central Serbia, Shumadia Municipality

Publication year - PY: 2020.

Publisher - PU: Author reprint

Publication place - PP: 34000 Kragujevac, Svetozara Markovića 69

Physical description - PD: 118 pages, 37 tables, 6 shema, 9 chapters, citations 107

Scientific field - SF: Medicine

Scientific discipline - SD: Experimental and clinical internal medicine

Subject/key words - SKW: hemodiafiltration, dialysis membrane, oxidative stress.

UDC:

Holding data: Library of Faculty of medical sciences, University of Kragujevac, Serbia

Note - N:

ABSTRACT

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading cause of death for patients treated with regular hemodialysis. Oxidative stress is a non-traditional risk factor for the development of cardiovascular disease in this population of patients. Main causes of the development of oxidative stress in patients treated with regular hemodialysis are dialysis membrane biocompatibility, the presence of endotoxin in hemodialysis solution and decreased activity of antioxidant enzymes. The main clinical consequences of oxidative stress include the development and acceleration of the process of arteriosclerosis, the development of anemia and resistance to erythropoietin malnutrition and amyloidosis connected with hemodialysis.

Objective: The main objectives of the examination are: dialysis, membrane, impact, assessment and dialysis modality on the development of oxidative stress, microinflammation and malnutrition impact assessment on the development of oxidative stress, as well as assessment of the effect of oxidative stress on the development of arteriosclerosis and resistance to erythropoietin.

Method: The study examined 125 patients treated with regular hemodialysis respecting the Declaration of Helsinki on Medical Research and Good Clinical Practice. The grouping of patients was done on the basis of clinical parameters in accordance with the objectives of the research.

Results: Patients treated with regular on-line hemodiafiltration with “high-flux” coated with vitamin E have statistically significantly lower concentration of reactive substances related to thiobarbituric acid (TBARS). Between the thickness of the intima-media of the carotid arteries and the concentration of TBARS in the serum, there is a statistically significant positive connection, while between concentration of SOD in erythrocyte and carotid artery thickness of intima-media, there is highly significant negative connection. Patients with resistance to long-acting erythropoietin have statistically significantly lower concentration of prealbumin and vitamin D in the serum, as well as statistically significantly higher concentration of CRP, superoxide anion and hydrogen peroxide in the serum. Microinflammation is an independent risk factor for the development of erythropoietin resistance.

Conclusion: Membranes for hemodialysis coated with vitamin E reduce serum peroxidation lipid concentration parameters, such as malondialdehyde (MDA), reactive substances related to thiobarbituric acid (TBARS) and oxidized LDL cholesterol (oxLDL). Studies show that these membranes reduce both the concentration of oxidative damage parameters of nucleic acids such as 8-OHdG, as well as the concentration of microinflammation parameters (CRP, interleukin-6). These membranes provide good control of leukocyte function, manifest antioxidant and anti-inflammatory effects. High-flux

hemodialysis and hemodiafiltration with polysulfone membrane and vitamin E coated membrane reduces atherosclerosis, hemodialysis-related amyloidosis, erythropoietin resistance index, and improves the treatment of anemia in the population of patients treated with regular hemodialysis.. **Keywords: hemodiafiltration, dialysis membrane, oxidative stress.**

Accepted by the Scientific Board on - ASB:

Defended on - DE:

Thesis defended board (Degree/name/surname/title/faculty) - DB:

Prof. dr Djoko Maksić, President of the commission

Prof. dr Vladimir Živković, member

Ass. Prof.dr Isidora Milisavljević, member

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Антић Светлана, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Процена оксидационог стреса код болесника који се лече редовном хемодијализом

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу представља оригинално ауторско дело настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио/ла повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

у Крагујевцу, 10.06.2029 године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Антић Светлана,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Процеса оксидативног стреса код болесника који се лече реловним хемодијализом

која је одбрањена на Медицинском факултету

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем преузимања.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

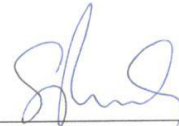
не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

у КРАГЈЕВЦУ, 10. 06. 2020 године,



потпис аутора

Радови који су били услов за пријаву завршене докторске дисертације

1. Antić S, Draginić N, Pilčević D, Živković V, Srejović I, Jeremić N, Petrović D, Jakovljević V. The influence of vitamin E coated dialysis membrane on oxidative stress during the single session of on-line hemodiafiltration. *Vojnosanit Pregl* 2019; DOI: 10.2298/VSP190730097A

2. Antić S, Draginić N, Nikolić T, Jeremić N, Petrović D. Oxidative stress in hemodialysis patients: pathophysiological mechanisms, clinical consequence and basic principles of treatment. *Ser J Exp Clin Res* 2019; DOI: 10.2478/sjecr-2019-0008.

3. Antić S, Draginić N, Jovanović M, Nikolić T, Jeremić N, Živković V, Srejović I, Petrović D, Jakovljević V. The relation between oxidative stress and carotid artery atherosclerosis in hemodialysis patients. *Ser J Exp Clin Res* 2019; DOI: 10.2478/sjecr-2019-0052.

UNIVERSITY IN KRAGUJEVAC;
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES
Journal »Serbian Journal of Experimental and
Clinical Research«

Svetozara Markovica 69, 34000 Kragujevac
Phone number: +381 (0)34 30 68 00 ext.118;
Fax number: +381 (0)34 30 68 00 ext.112;
http://www.medf.kg.ac.rs/sjecr
sjecr@medf.kg.ac.rs

Serbian Journal



Clinical Research



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Бр. 06-2714

12.03. 2019 год



КРАГУЈЕВАЦ

Поштовани аутори,


Обавештавамо вас да је рад под насловом: "OXIDATIVE STRESS IN HEMODIALYSIS PATIENTS: PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS, CLINICAL CONSEQUENCES AND BASIC PRINCIPLES OF TREATMENT", чији су аутори: Svetlana Antić, Nevena Draginić, Tomislav Nikolić, Nevena Jeremić i Dejan Petrović, који је у евиденцији редакције часописа SERBIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH, former title MEDICUS заведен под бројем SJECD-19-00003R1, након достављених стручних рецензија од компетентних рецензента, а које је одредило Уредништво часописа SERBIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH, поштујући принцип «слепе рецензије», ПРИХВАЋЕН ЗА ШТАМПУ и биће штампан у једном од наредних бројева Часописа.

DOI: 10.2478 /sjecr-2019-0008

Надамо се да ћете и даље наставити сарадњу са Часописом.

С поштовањем,

ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК ЧАСОПИСА
SERBIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL
AND CLINICAL RESEARCH


Проф. др Владимир Јаковљевић

OXIDATIVE STRESS IN HEMODIALYSIS PATIENTS: PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS, CLINICAL CONSEQUENCES AND BASIC PRINCIPLES OF TREATMENT

Svetlana Antić¹, Nevena Draginić², Tomislav Nikolić^{2,3}, Nevena Jeremić², Dejan Petrović^{2,3}

¹Clinic of Nephrology, Military Medical Academy Belgrade, Belgrade, Serbia

²Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

³Clinic of Urology, Nephrology and Dialysis, Clinical Center Kragujevac, Kragujevac, Serbia

OKSIDATIVNI STRES KOD BOLESNIKA KOJI SE LEČE REDOVNOM HEMODIJALIZOM: PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI, KLINIČKE POSLEDICE I OSNOVNI PRINCIPI LEČENJA

Svetlana Antić¹, Nevena Draginić², Tomislav Nikolić^{2,3}, Nevena Jeremić², Dejan Petrović^{2,3}

¹Klinika za nefrologiju, Vojnomedicinska akademija Beograd, Beograd, Srbija

²Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac, Srbija

³Klinika za urologiju, nefrologiju i dijalizu, KC Kragujevac, Kragujevac, Srbija

Received/Primljen: 27.01.2019.

Accepted/Prihvaćen: 15.02.2019.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in patients who undergo regular hemodialysis. Oxidative stress is a non-traditional risk factor for the development of cardiovascular diseases in this population of patients. It is defined as tissue damage caused by balance disturbance between the formation of free radicals and the function of protective antioxidative systems. The superoxide anion and hydrogen peroxide are precursors in the formation of stronger oxidants, such as: hydroxyl radical, peroxynitrite and hypochloric acid. Superoxide dismutase is the first line of antioxidant protection while catalase, glutathione peroxidase, trace elements, vitamin C, vitamin E, N-acetylcysteine and coenzyme Q10 also have a significant antioxidative role. Hemodialysis is itself a trigger for the increased formation of oxygen free radicals. The two main pathophysiological mechanisms of the increased formation of free oxygen radicals during the hemodialysis session are: biocompatibility of the dialysis membrane and the presence of endotoxins in the hemodialysis solution. The measurement of myeloperoxidase concentration in a patient's serum during hemodialysis is an indicator of the severity of oxidative stress induced by the dialysis membrane (an indicator of the biocompatibility of the dialysis membrane). The main clinical consequences of oxidative stress include: atherosclerosis, erythropoietin resistance, malnutrition and amyloidosis associated with hemodialysis. The evaluation of oxidative stress in patients undergoing hemodialysis is performed by measuring the concentration of lipid peroxidation products (malonyldialdehyde, 4-hydroxynonenal, TBARS, F2-isoprostane, α LDL), protein oxidation (AOPP), protein gelling (AGE), and oxidation of nucleic acids (8-OHdG). The antioxidant treatment strategy consists of replenishing vitamin C, vitamin E, selenium, N-acetylcysteine and coenzyme Q10. On-line hemodialysis, a biocompatible vitamin E-coated dialysis membrane, an ultra-pure solution for hemodialysis, prevent oxidative stress, reduce the rate of cardiovascular morbidity and mortality and improve life quality of patients treated with regular hemodialysis.

Keywords: oxidative stress, hemodialysis, dialysis membrane, biocompatibility, hemodialysis solution, vitamin E, vitamin C.

SAŽETAK

Kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok smrti bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom. Oksidativni stres je netradicionalni faktor rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti u ovoj populaciji bolesnika. Definiše se kao oštećenje tkiva nastalo zbog poremećaja ravnoteže između stvaranja slobodnih radikala i funkcije zaštitnih antioksidativnih sistema. Superoksidni anjon i vodonik peroksid su prekursori za stvaranje jačih oksidansa, kao što su: hidroksil radikali, peroksinitrit i hipohlorna kiselina. Superoksid dismutaza je prva linija antioksidativne zaštite, a značajnu antioksidativnu ulogu imaju i katalaza, glutation peroksidaza, elementi u tragovima, vitamin C, vitamin E, N-acetilcistein i koenzim Q10. Hemodijaliza je sama po sebi okidač za povećano stvaranje slobodnih radikala kiseonika. Dva glavna patofiziološka mehanizma povećanog stvaranja slobodnih radikala kiseonika u toku seanse hemodijalize su: biokompatibilnost dijalizne membrane i prisustvo endotoksina u rastvoru za hemodijalizu. Merenje koncentracije mijeloperoksidaze u serumu bolesnika u toku seanse hemodijalize je pokazatelj težine oksidativnog stresa indukovano hemodijalizom membranom (pokazatelj biokompatibilnosti dijalizne membrane). U glavne kliničke posledice oksidativnog stresa spadaju: ateroskleroza, rezistencija na dejstvo eritropoetina, malnutricija i amiloidoza povezana sa hemodijalizom. Procena oksidativnog stresa kod bolesnika koji se leče hemodijalizom vrši se merenjem koncentracije produkata lipidne peroksidacije (malonyldialdehid, 4-hidroksinonenal, TBARS, F2-i-soprostanes, α LDL), oksidacije proteina (AOPP), glikacije proteina (AGE) i oksidacije nukleinskih kiselina (8-OHdG). Antioksidativna strategija lečenja sastoji se u nadoknadi vitamina C, vitamina E, selena, N-acetilcisteina i koenzima Q10. On-line hemodijalizacija, biokompatibilna dijalizna membrana obložena vitaminom E, ultračist rastvor za hemodijalizu sprečavaju oksidativni stres, smanjuju stopu kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta i popravljaju kvalitet života bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom.

Ključne reči: oksidativni stres, hemodijaliza, dijalizna membrana, biokompatibilnost, rastvor za hemodijalizu, vitamin E, vitamin C



DOI: 10.2478/sjcr-2019-0008

Corresponding author:
Prof. Dejan Petrović
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac
Clinic of Urology, Nephrology and Dialysis, Clinical Center Kragujevac,
Kragujevac
E-mail: dejanpetrovic68@sbh.rs
Tel.: 064-3741-694



INTRODUCTION

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in patients on regular hemodialysis treatment (1). They are the leading cause of death of patients treated with kidney replacement methods. In this patient population, the prevalence of traditional and non-traditional risk factors for the development of cardiovascular diseases is high. Non-traditional risk factors include: anemia, inflammation, oxidative stress, hyperhomocysteinemia, hypervolemia, metabolism of calcium and phosphate, and lack of vitamin D (1, 2).

Oxidative stress and pathophysiological mechanisms of its generation

Oxidative stress is defined as organ damage caused by the balance disturbance between the formation of free radicals and the function of antioxidant systems (3, 4). A free radical is any atom or molecule with one or more unpaired electrons. The processes of protein, carbohydrate, lipid and nucleic acid oxidation cause damage to the structure and function of organ tissue cells (3, 4). Free oxygen radicals are produced in polymorphonuclear leukocytes under the action of NADPH (nicotinamide-adeninucleotide-phosphate oxidase), which transforms the molecular oxygen into the superoxide anion (3, 4). The superoxide anion is transformed into hydrogen peroxide (H_2O_2) under the action of superoxide dismutase (SOD). The superoxide anion and hydrogen peroxide are precursors in the formation of stronger oxidants. The superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) reacts with nitric oxide (NO) and, in that case, toxic nitrogen products, such as peroxynitrite (ONOO⁻) (nitrosative stress), are formed (3). Hydrogen peroxide (H_2O_2) reacts with intracellular iron (Fe^{2+}) forming the hydroxyl radical (OH \cdot), and that reaction is known as the Fenton reaction (classical oxidative stress) (3, 4). Within the Haber-Weiss reaction, the hydroxyl radical (OH \cdot) is also generated by the interaction between the superoxide anion and hydrogen peroxide. Under the action of myeloperoxidase polymorphonuclear leukocytes (MPO), hydrogen peroxide is converted into hypochloric acid (HOCl) in the presence of chlorine anions (Cl⁻). Hypochloric acid can react with endogenous amines (R-NH₂) causing the production of chloramines (RNH-Cl) (chlorinated stress) (3, 4). The natural antioxidant system consists of an enzyme and a non-enzymatic component. Superoxide dismutase (SOD) is a representative of the first line of the antioxidant system. It accelerates the degree of superoxide anhydration in hydrogen peroxide. Catalase (CAT) converts hydrogen peroxide into water, and this also works with glutathione peroxidase (GSH-Px), but in the presence of glutathione, a hydrogen source (3). The non-enzymatic components of defense include: vitamin C, vitamin E, N-acetylcysteine, coenzyme Q10 (3, 4).

Oxidative stress induced by dialysis

Patients in the final stage of chronic kidney failure treated with hemodialysis exhibit increased free oxygen radicals levels due to prooxidative factors (age, diabetes mellitus, chronic inflammatory status, uraemia, bioincompatible dialysis membrane, presence of endotoxins in the hemodialysis

solution) and the reduced activity of antioxidant mechanisms (lack of vitamin C and selenium, lack of vitamin E, reduced glutathione system activity) (4, 5).

Hemodialysis is itself a trigger for the increased formation of free oxygen radicals. The two major pathophysiological mechanisms for the increased formation of free oxygen radicals during the hemodialysis session are: biocompatibility of the dialysis membrane and the presence of endotoxin in a hemodialysis solution (4, 5). Dialysis membranes play a central role in the hemodialysis and hemodynamic therapy process. They can be natural and artificial (synthetic). Natural membranes are cellulose derivatives, "low-flux", have low clearance of medium molecular weight uremic toxins and a lower degree of biocompatibility compared to synthetic membranes. Synthetic membranes (polysulphon, polyamide, polyacrylonitrile) are highly permeable ("high-flux"), biocompatible, have good clearance of uremic toxins of medium molecular weight and are highly water-permeable (high coefficient for ultrafiltration - Kuf) (6, 7). The parameter for the evaluation of the efficiency of the dialysis membrane is the coefficient of mass transfer - KoA. It represents the product of the coefficient of transmission (Ko) and the surface of the membrane (A). Depending on KoA dialysers can be: low-efficient dialysers KoA < 300, moderately effective dialysers - KoA = 300-600 and high-efficiency dialysers - KoA > 600-700 (6, 7). The ultrafiltration capacity of the dialyser (provides clearance of uremic toxins of medium and high molecular weight) is quantified based on the ultrafiltration coefficient - Kuf. Depending on the ultrafiltration coefficient, the dialysers can be: "low-flux" (Kuf < 10 ml/h x mmHg) and "high-flux" (Kuf > 20 ml/h x mmHg) (6, 7). High-flux semipermeable dialysis membranes are used for on-line hemodialysis, with an ultrafiltration coefficient greater than 20 ml/h x mmHg (≥ 50 ml/h x mmHg, high water permeability and water-soluble secondary molecular weight substances) (6, 7). When the patient's blood is touched by the hemodialysis system, the complement and blood coagulation systems, platelets, mononuclear and polymorphonuclear cells of the immune system are activated, and can also signal hypersensitivity reactions (6, 7). During the hemodialysis session, due to direct contact of the blood and the surface of the membrane for hemodialysis, there is a direct activation of the polymorphonuclear leukocytes, which, due to activated myeloperoxidase (MPO), increase the free acidic radicals' levels [8]. The measurement of myeloperoxidase concentration released from the serum neutrophils during the hemodialysis is an indicator of the severity of oxidative stress induced by the use of membranes for hemodialysis of a different degree of biocompatibility (8). Liquid that enters the dialyser is a combination of dialysis water and electrolyte solution and is called a dialysis solution (dialysate, dialysis fluid), and the fluid coming out of the dialyser is the combination of dialysis fluid and toxic molecules removed from the patient's blood (9, 10). Water mixed with electrolytic solution, with prior treatment in the water treatment system, is called dialysis water. During standard hemodialysis (3x weekly for 4h), the patient's organism is exposed to approximately 360 liters of dialysis solution. Therefore, high



microbiological quality of the dialysis solution (ultra-pure dialysis solution) is required, and clinical trials show its beneficial effect on the outcome of the treatment of patients (9, 10). According to the European Best Practice Guidelines/European Renal Best Practice, ANSI/AAMI RD52 (American National Standards Institute/Association for the Advancement of Medical Instrumentation RD 52) and ANSI/AAMI/ISO 11663 for the Advancement of Medical Instrumentation ISO 11663), the ultra-pure dialysis solution is defined as a solution in which the number of colonies of bacteria is < 0.1 CFU/mL and the endotoxin concentration is $E < 0.03$ EU/mL. The ultrafine solution is used for high-flux hemodialysis (HFHD) and hemodynamic filtration (HDF) (9, 10). For hemodialysis with the low-flux membrane (LFHD), according to current recommendations, the concentration of endotoxin should be ≤ 0.50 EU/mL (≤ 0.25 EU/mL) and the number of colonies ≤ 100 CFU/mL (≤ 50 CFU/mL) (9, 10). Endotoxin and other bacterial products, backdiffusion/backfiltration processes, pass from a dialysis solution, through a dialysis membrane (pore size on the dialysis membrane, the ability of the membrane to adsorb endotoxins, the thickness of the membrane) into the patient's blood and activate the mononuclears and polymorphonuclears to produce free oxygen radicals and proinflammatory cytokines (interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor - $TNF\alpha$), all of which results in the development of oxidative stress, microinflammatory and accelerated atherosclerosis (9, 10). To detect bacterial products in a hemodialysis solution (dialysis), a biological assay of peripheral blood mononuclear cell induction is used to produce cytokines - PBMC (cytokine induction in peripheral blood mononuclear cells), and for the detection of lipopolysaccharide (LPS) and endotoxin, LAL (Limulus-amebocyte-lysate test) test (9, 10). Ultrapure dialysis solution prevents the development of oxidative stress, microinflammation, slows down the decrease in residual renal function of the kidney, improves the nutritional status of patients, increases the sensitivity of the red blood cell line to the effect of erythropoietin, reduces the cardiovascular morbidity and mortality of patients treated with regular dialysis (9, 10).

In patients treated with regular hemodialysis, the activity of enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems is reduced. The decreased activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase) is due to reduced concentration of trace elements, such as selenium, copper and zinc. Concentration of trace elements is reduced due to insufficient input, but also increased loss during hemodialysis session (11). Because of the lack of vitamin C and vitamin E, the capacity of non-enzymatic antioxidative protection systems is reduced (11, 12).

Clinical consequences of oxidative stress

The main clinical consequences of oxidative stress include the development and acceleration of the atherosclerosis process, the development of anemia and the resistance to erythropoietin activity, malnutrition and amyloidosis associated with hemodialysis (13). The superoxide anion oxidizes tetrahydrobiopterin (an endogenous cofactor necessary for

the activity of nitric oxide (NO) synthetase enzyme) and in this way reduces the production of NO. Nitric oxide is continuously produced in endothelial cells by the action of NO synthetase on L-arginine. It has a protective effect on the cardiovascular system (blocking the proliferation of vascular smooth muscle cells, platelet aggregability and adhesion of monocytes on endothelium). The activity of NO synthetase can be blocked by endogenous methylarginins. Asymmetric dimethylarginine is the most important endogenous blocking agent of the NO synthesis. It is mostly excreted through the kidneys, and partly under the influence of dimethyl-diamino-hydroxylase (DDAH), it is degraded to citrulline. Oxidative stress blocks the activity of DDAH, which reduces the degradation of asymmetric dimethylarginine, and its accumulation in endothelial cells blocks the nitric oxide synthase, which begins the process of atherosclerosis (13). Increased serum homocysteine concentration is another significant blocker of the activity of dimethyl-diamino-hydroxylase enzyme (DDAH) in endothelial cells of arterial blood vessels. Increased serum homocysteine concentrations are present in 80% of patients treated with regular hemodialysis. It is defined as the concentration of homocysteine in the serum higher than $15 \mu\text{mol/L}$ and is the result of a reduced activity of the enzymes crucial in the metabolism of homocysteine, such as the 5-methyltetrahydrofolate reductase, methionine synthase, and beta-synthesis of cystation. The decreased activity of these enzymes is due to the decreased concentration of vitamins B6, B12 and folic acid (cofactor of the enzymes mentioned) (14, 15). The lack of vitamin B6 occurs when the concentration of vitamin B6 in the serum is < 20 nmol/L, the lack of vitamin B12 when the concentration of vitamin B12 in the serum is < 200 pg/mL, and the lack of folic acid as the serum folate concentration is < 2.2 mg/mL (14, 15). In healthy population, the normal concentration of ADMA in plasma is $1.0 \mu\text{mol/L}$, in hemodialysis patients $2.2 \mu\text{mol/L}$, and at the concentrations of $3-15 \mu\text{mol/L}$, ADMA blocks the formation of NO in the endothelial cells of the blood vessels and begins the atherosclerosis process (16). In addition to oxidative stress and hyperhomocysteinemia, a significant role in the development of atherosclerosis in patients treated with regular hemodialysis is the role of microinflammation. It is present in 30-50% of these patients and is defined as the concentration of C-reactive protein in the serum ≥ 10 mg/L. A significant role in causing and maintaining chronic low-level microinflammation in this population of patients belongs to bio-compatibility of dialysis membrane, water quality for hemodialysis and vascular approach for hemodialysis (17-19). Microinflammation causes the accumulation of neutrophils and monocytes in the atherosclerotic plaque, and the release of free radicals of oxygen (oxidative stress), cytokines and metalloproteinases can lead to rupture of the atherosclerotic plaque cap and the development of acute coronary events (19, 20).

In 10-30% of patients treated with regular hemodialysis, there is a resistance to erythropoietin activity. According to the European recommendations, the resistance to erythropoietin activity is defined as the inability to achieve the target hemoglobin concentration in the blood ($Hb = 110-120$ g/L)



using erythropoietin at a dose of ≥ 300 IU/kg/week ($\geq 20,000$ IU/week) or darbepoetin-a at a dose of ≥ 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}$ (≥ 100 $\mu\text{g}/\text{week}$) or as a constant need for high doses of erythropoietin in order to maintain the target hemoglobin concentration (21). For the measurement of the severity of resistance to erythropoietin, the erythropoietin resistance index - ERI (Erythropoietin Resistance Index) is used (21). It represents the ratio of weekly dose of erythropoietin depending on body weight and blood hemoglobin (EPO/kg/weekly/Hb). Erythropoietin resistance index ≥ 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{week}/\text{g}$ of Hb indicates the presence of erythropoietin resistance (21). The main risk factors for the development of resistance to erythropoietin activity are iron deficiency, inflammation, oxidative stress, lack of vitamin D and secondary hyperparathyroidism, lack of vitamin C, vitamin B12, folic acid and L-carnitine, anti-EPO antibodies (21). Iron deficiency, oxidative stress, microinflammation and lack of vitamin C block the proliferation and differentiation of red cell precursor cells, reduce the synthesis of endogenous erythropoietin, stimulate the secretion of hepcidin and the development of a functional iron deficiency (22, 23).

Parameters of oxidative stress in patients with hemodialysis

Free oxygen radicals have a very short half-life (one second), so the clinical evaluation of oxidative stress is measured by measuring stable oxidation products. Oxidative stress parameters include lipid peroxidation products (such as: acrolein, malonyldialdehyde, 4-hydroxynonenal, TBARS, F2-isoprosthenes), lipid oxidation products (oxLDL, anti-oxLDL antibodies), oxidatively altered proteins (final product of protein oxidation - AOPP), final protein glycation products (AGE), evaluation of the activity of antioxidant enzymes (SOD and glutathione peroxidase in erythrocytes), evaluation of non-enzymatic anti-oxidants (plasma vitamin C, glutathione and vitamin E content in erythrocytes) and inflammatory proteins CRP, albumin (23). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) is used as the parameter of nucleic acids oxidation, and its concentration in the serum and leukocytes is increased in patients treated with regular hemodialysis (23, 24).

Treatment of oxidative stress in hemodialysis patients

The antioxidant treatment strategy consists of the supplementation with vitamin C, vitamin E (α -tocopherol), selenium, N-acetylcysteine, and coenzyme Q10. Patients treated with regular hemodialysis have a deficiency of vitamin C due to reduced dietary intake (fresh fruits and vegetables in addition to vitamin C also contain significant amounts of potassium) and its elimination during the hemodialysis session (low molecular weight - MW = 176.1 Da, in a small percentage it is bound for plasma proteins - PB = 25%, hydro-soluble vitamin) (24, 25). During the hemodialysis session, 100-300 mg of vitamin C is removed (vitamin C concentration after hemodialysis is reduced by 30-50%) (24, 25). Normal serum vitamin C concentration is 30-60 $\mu\text{mol}/\text{L}$, and patients treated with regular hemodialysis often have a severe lack of vitamin C (vitamin C concentration in the serum < 10

$\mu\text{mol}/\text{L}$) and require the substitution of this vitamin (24, 25). In patients treated with regular hemodialysis, vitamin C is administered per os at a dose of 100-200 mg/day, and can also be applied i.v. at a dose of 300-500 mg after each hemodialysis session over a period of 8-12 weeks, with a defective monitoring for early detection of systemic oxalosis (measurement of serum oxalate concentration required) (24, 25). Intravenous use of vitamin C reduces the concentration of ferritin and proinflammatory mediators in the serum, reduces oxidative stress and resistance to the effect of erythropoietin in patients on regular hemodialysis treatment (24, 25).

Vitamin E (α -tocopherol) has a very strong antioxidant effect. It is administered per os, and the dose of vitamin E can be expressed in international units or milligrams: 100 IU = 67 mg of natural vitamin E (26). When applied in a dose of 400-800 mg/day over a period of 8-12 weeks it significantly reduces the concentration of malondialdehyde, oxLDL and TBARS in the plasma of patients treated with regular hemodialysis. The use of vitamin E reduces oxidative stress, prevents the development and acceleration of atherosclerosis and reduces the corpulence of intima-media of carotid arteries in the population of patients treated with regular hemodialysis (26).

N-acetylcysteine (NAC) increases the production of glutathione, which plays an important role in the function of antioxidant enzymes, such as glutathione peroxidase (GSH-Px). Applied at a dose of 600-1200 mg/day for 3-6 months it significantly reduces the concentration of malondialdehyde (MDA) and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in the plasma, reduces the resistance index to the effect of erythropoietin and compensates for the treatment of anemia in patients treated with regular hemodialysis (23, 26).

Coenzyme Q provides homeostasis of mitochondria and reduces oxidative stress (prevents oxidation of lipids, proteins, and nucleic acids). Applied in a dose of 1200-1800 mg daily for 4-6 months, it significantly reduces the concentration of final protein oxidation products (AOPP) and malondialdehyde (MDA) in the plasma of patients treated with regular hemodialysis (26, 27).

The choice of the modality of hemodialysis, the type of dialysis membrane and the type of solution for hemodialysis can significantly reduce oxidative stress, prevent the development of accelerated atherosclerosis, and correct the treatment of anemia in patients treated with hemodialysis (28-41).

On-line hemodiafiltration reduces the resistance to erythropoietin activity. The reduction of resistance to erythropoietin activity results from an increased removal of hepcidin, inflammatory mediators, and lipid, protein and nucleic acid oxidation products during a hemodynamic filtration session. Treatment *on-line* by hemodiafiltration over a period of three to six months significantly reduces inflammation, oxidative stress, serum hepcidin concentration, which increases the availability of iron for erythropoiesis and reduces the resistance to erythropoietin activity (28, 29).



Vitamin E coated hemodialysis membranes reduce serum lipid peroxidation parameters such as malondialdehyde (MDA), thiobarbutyric acid reactive compounds (TBARS) and oxidized LDL cholesterol (oxLDL). Studies have shown that these membranes also reduce the concentration of oxidative nucleic acid parameters, such as 8-OHdG, as well as the concentration of microinflammatory parameters (CRP, interleukin-6) (30-37). Vitamin E coated dialysis membranes reduce the content of 8-OHdG in leukocytes in patients treated with regular hemodialysis (reduces DNA leukocyte oxidation). These membranes provide good control of the function of leukocytes, exhibit an antioxidant and antiinflammatory effect (30-37). The treatment of high-flux hemodialysis with polysulphonic membrane-bound vitamin E over a period of six months significantly reduces oxidative stress, microinflammation, an erythropoietin resistance index and corrects the treatment of anemia in patients treated with regular hemodialysis (30-37).

The treatment of anemia in patients on hemodialysis involves the use of erythropoiesis (ESA) stimulating agents and intravenous iron (iron sucrose). After the administration of intravenous iron at a dose of 100 mg (within 15-30 minutes of infusion), the concentration of free oxygen radicals in these patients significantly increased (38-41). In order to prevent the development of oxidative stress after i.v., Ferrous Pyrophosphate Citrate (FPC) for adult patients treated with hemodialysis, administered through a solution for hemodialysis, was approved by the US Food and Drug Administration in 2015 (38-41). One 5 ml FPC (Triferic™) ampoule is added to every 2.5 gallons of bicarbonate concentrate so that the final FPC concentration in the hemodialysis solution is 110 µg/L (2.0 µmol/L). FPC is used in every hemodialysis treatment, and the serum ferritin concentration and iron transfer (TSAT) saturation should be measured every three months. In patients with a serum ferritin concentration greater than 1000 ng/mL, and TSAT greater than 50% should be discontinued, FCD should be used, standard bicarbonate solution for hemodialysis should be used. In patients whose serum ferritin concentration is less than 200 ng/mL, i.v. iron 400-500 mg, during the next 4-5 hemodialysis treatments (100 mg/HD), and the FPC should be continuously applied. When the target serum ferritin concentration and saturated transfer of iron transfer is achieved, FPC should be applied continuously because 5-7 mg of iron (maintenance of target values of ferritin and TSAT) is lost during each hemodialysis session (38-41). Iron application through hemodialysis solution reduces oxidative stress and reduces the resistance to erythropoietin (dose of erythropoietin decreases by 35%) (38-41).

CONCLUSION

Cardiovascular diseases are the leading cause of patients with chronic kidney disease treated with kidney replacement methods. In this patient population, there is a high prevalence of traditional but also new non-traditional risk factors for the development of cardiovascular diseases. Oxidative stress is a significant non-traditional risk factor for the progression of

chronic kidney disease and the development of cardiovascular diseases in the population of patients on regular hemodialysis treatment. The main clinical effects of oxidative stress are: atherosclerosis, amyloidosis associated with hemodialysis, resistance to erythropoietin activity and malnutrition. The antioxidant treatment strategy consists of replenishing vitamin C, vitamin E, selenium, N-acetylcysteine and coenzyme Q10. *On-line* hemodialysis, a biocompatible vitamin E-coated dialysis membrane and an ultra-pure solution for hemodialysis prevent oxidative stress. Early detection of oxidative stress and timely application of appropriate antioxidant therapy can prevent the development of cardiovascular diseases, reduce the rate of cardiovascular morbidity and mortality, and improve the life quality of patients treated with renal replacement methods.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors would like to express their deepest gratitude to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for the Grant N0175014 and also to the Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for their Junior Grant N002/19 from which the funds were used as one of the sources to financially support this paper.

REFERENCES

1. Cozzolino M, Mangano M, Stucchi A, et al. (2018). Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 33(1), 28-34. DOI: 10.1093/ndt/gfy174.
2. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. (2004). Novel Cardiovascular Risk Factors in End-Stage Renal Disease. *J Am Soc Nephrol.* 15(Suppl 1), 77-80. DOI: 10.1097/01.ASN.0000093240.84097.FE.
3. Locatelli F, Canaud B, Eckardt K-U, et al. (2003). Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 18(7), 1272-80. DOI: 10.1093/ndt/gfg074.
4. Descamps-Latscha B, Drücke T, Witko-Sarsat V. (2001). Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial.* 14(3), 793-9. DOI: 10.1046/j.1525-139X.2001.00052.x.
5. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, et al. (2017). Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxidative Med Cell Long.* 2017: 3081856., DOI: 10.1155/2017/3081856.
6. Santoro A, Guadagni G. (2010). Dialysis membrane: from convection to adsorption. *Nephrol Dial Transplant.* 3(Suppl 1), 36-9. DOI: 10.1093/ndtplus/sfg035.
7. Ronco C, Clark W. Hemodialysis membranes. (2018). *Nat Rev Nephrol.* 14(6), 394-410. DOI: 10.1038/s41581-018-0002-x.
8. Wu CC, Chen JS, Wu WM, et al. (2005). Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single hemodialysis session using two different biocompatible



- dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant*. 20(6), 1134-9. DOI: 10.1093/ndt/gfh764.
9. Ward RA. *Ultrapure Dialysate*. (2004). *Semin Dial*. 17(6), 489-97. DOI: 10.1111/j.0894-0959.2004.17617.x.
 10. Glorieux G, Neirynek N, Veys N, et al. (2012). Dialysis water and fluid purity: more than endotoxin. *Nephrol Dial Transplant*. 27(11), 4010-21. DOI: 10.1093/ndt/gfs306.
 11. Aziz MA, Majeed GH, Diab KS, et al. (2016). The association of oxidant-antioxidant status in patients with chronic renal failure. *Ren Fail*. 38(1), 20-6. DOI: 10.3109/0886022X.2015.1103654.
 12. Handelman GJ. (2007). Vitamin C deficiency in dialysis patients - are we perceiving the tip of an iceberg? *Nephrol Dial Transplant*. 22(2), 328-31. DOI: 10.1093/ndt/gfl534.
 13. Zalba G, Fortuño A, Diez J. (2006). Oxidative stress and atherosclerosis in early chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 21(10), 2686-90. DOI: 10.1093/ndt/gfl398.
 14. Massy ZA. (2000). Importance of homocystein, lipoprotein (a) and non-classical cardiovascular risk factors (fibrinogen, and advanced glycation end-products) for atherogenesis in uraemic patients. *Nephrol Dial Transplant*. 15(Suppl 5), 81-91. DOI: 10.1093/ndt/15.suppl_5.81.
 15. Culleton BF, Bostom AG. (2000). Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. In: *Cardiovascular Disease in End-stage Renal Failure*. Loscalzo J, London GM, (eds). The Oxford University Press, New York, 2000: 211-28.
 16. Kielstein JT, Frölich JC, Haller H, et al. (2001). ADMA (asymmetric dimethylarginine): an atherosclerotic disease mediating agent in patient with renal disease? *Nephrol Dial Transplant*. 16(9), 1742-5. DOI: 10.1093/ndt/16.9.1742.
 17. Lacson E, Levin NW. (2004). C-Reactive Protein and End-Stage Renal Disease. *Semin Dial*. 17(6), 438-48. DOI: 10.1111/j.0894-0959.2004.17604.x.
 18. Petrović D, Obrenović R, Poskurica M, i ost. (2007). Povezanost C-reaktivnog proteina sa ehokardiografskim parametrima hipertrofije i ishemijske bolesti srca u bolesnika koji se leče ponavljanim hemodijalizama. *Med Pregl*. LX (Suppl 2), 160-4.
 19. Akchurin OM, Kaskel F. (2015). Update on Inflammation in Chronic Kidney Disease. *Blood Purif*. 39(1), 84-92. DOI: 10.1159/000368940.
 20. Koenig W. (2003). C-reactive protein and cardiovascular risk: an update on what is going on in cardiology. *Nephrol Dial Transplant*. 18(6), 1039-41. DOI: 10.1093/ndt/gfg103.
 21. Kanbay M, Perazella MA, Kasapoglu B, et al. (2010). Erythropoiesis Stimulatory Agent-Resistant Anemia in Dialysis Patients: Review of Causes and Management. *Blood Purif*. 29(1), 1-12. DOI: 10.1159/000245041.
 22. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, et al. (2003). Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 18(7), 1272-80. DOI: 10.1093/ndt/gfg074.
 23. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Zarogiannis S, et al. (2019). Oxidative stress in hemodialysis: Causative mechanisms, clinical implications, and possible therapeutic interventions. *Semin Dial*. 32(1), 58-71. DOI: 10.1111/sdi.12745.
 24. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Bozikas A, et al. (2019). Antioxidant Supplementation in Renal Replacement Therapy Patients: Is There Evidence? *Oxidative Med Cell Long*. 2019, Article ID 9109473, 23 pages. DOI: 10.1155/2019/9109473.
 25. Zhang KY, Zuo L. (2014). Vitamin C supplementation in patients on maintenance dialysis. *W J Clin Urol*. 3(3), 344-50. DOI: 10.5410/wjcu.v3.i3.344.
 26. Coombes JS, Fassett RG. (2012). Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int*. 81(3), 233-46. DOI: 10.1038/ki.2011.341.
 27. Gokbel H, Atalay H, Okudan N, et al (2011). Coenzyme Q10 and its Relation with Oxidant and Antioxidant System Markers in Patients with End-Stage Renal Disease. *Ren Fail*. 33(7), 677-81. DOI: 10.3109/0886022X.2011.589941.
 28. Den Hoedt CH, Bots ML, Grooteman MPC, et al. (2014). Online hemodiafiltration reduces systemic inflammation compared to low-flux hemodialysis. *Kidney Int*. 86(2), 423-32. DOI: 10.1038/ki.2014.9.
 29. Panichi V, Scatena A, Rosati A, et al. (2015). High-volume online hemodiafiltration improves erythropoiesis-stimulating agents (ESA) resistance in comparison with low-flux bicarbonate dialysis: results of the REDERT study. *Nephrol Dial Transplant*. 30(4): 682-9. DOI: 10.1093/ndt/gfu345.
 30. Targ DC, Huang TP, Liu TY, et al. (2000). Effect of vitamin E-bonded membrane on the 8-hydroxy 2'-deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients. *Kidney Int*. 58(2), 790-9. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2000.00228.x.
 31. Andrulli S, Di Filippo S, Manzoni C, et al. (2010). Effect of synthetic vitamin E-bonded membrane on responsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients: a pilot study. *Nephron Clin Pract* 115(1), 82-9. DOI: 10.1159/000294281.
 32. Panagiotou A, Nalesso F, Zanella M, et al. Antioxidant Dialytic Approach with Vitamin E-Coated Membranes. In: Ronco C, Rosner MH. Eds. *Hemodialysis: New Methods and Future Technology*. Contrib Nephrol. Basel, Karger, 2011; 171: 101-6.
 33. Panichi V, Rosati A, Paoletti S, et al. (2011). A vitamin E-coated polysulphone membrane reduces serum levels of inflammatory markers and resistance to erythropoietin-stimulating agents in hemodialysis patients: results of a randomized cross-over multicenter trial. *Blood Purif*. 32(1), 7-14. DOI: 10.1159/000321369.
 34. Yang SK, Xiao L, Xu B, et al. (2014). Effects of vitamin E-coated dialyzer on oxidative stress and inflammation status in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail*. 36(5), 722-31. DOI: 10.3109/0886022X.2014.890858.



35. Yamadera S, Nakamura Y, Inagaki M, et al. (2017). Vitamin E-Coated Dialyzer Inhibits Oxidative Stress. *Blood Purif.* 44(4), 288-93. DOI: 10.1159/000478971.
36. D'Arrigo G, Baggetta R, Tripepi G, et al. (2017). Effects of vitamin E-Coated versus Conventional Membranes in Chronic Hemodialysis Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Blood Purif.* 43(1-3), 101-22. DOI: 10.1159/000453444.
37. Locatelli F, Andrulli S, Vigano SM, et al. (2017). Evaluation of the Impact of a New Synthetic Vitamin E-Bonded Membrane on the Hypo-Responsiveness to the Erythropoietin Therapy in Hemodialysis Patients: A Multicenter Study. *Blood Purif.* 43(4), 338-45. DOI: 10.1159/000453442.
38. Fishbane S, Singh AK, Cournoyer SH, et al. (2015). Ferric pyrophosphate citrate (Triferic™) administration via the dialysate maintains hemoglobin and iron balance in chronic hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 30(12), 2019-26. DOI: 10.1093/ndt/gfv277.
39. Gupta A, Lin V, Guss C, et al. (2015). Ferric pyrophosphate citrate administered via dialysate reduces erythropoiesis-stimulating agent use and maintains hemoglobin in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 88(5), 1187-94. DOI: 10.1038/ki.2015.203.
40. Shah HH, Hazzan AD, Fishbane S. (2016). Ferric Pyrophosphate Citrate: A Novel Iron Replacement Agent in Patients Undergoing Hemodialysis. *Semin Nephrol.* 36(2), 124-9. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2016.02.007.
41. Fishbane S, Shah HH. (2017). Ferric pyrophosphate citrate as an iron replacement agent for patients receiving hemodialysis. *Hemodialysis Int.* 21(Suppl 1), 104-9. DOI: 10.1111/hdi.12554.

UNIVERSITY IN KRAGUJEVAC;
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES
Journal »Serbian Journal of Experimental and
Clinical Research«



Svetozara Markovica 69, 34000 Kragujevac
Phone number: +381 (0)34 30 68 00 ext.118;
Fax number: +381 (0)34 30 68 00 ext.112;
http://www.medf.kg.ac.rs/sjecr
sjecr@medf.kg.ac.rs

Serbian Journal

Clinical Research



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Бр. 06-13523

06. 11. 20 19



КРАГУЈЕВАЦ



Поштовани аутори,

Обавештавамо вас да је рад под насловом: „THE RELATION BETWEEN OXIDATIVE STRESS AND CAROTID ARTERY ATHEROSCLEROSIS IN HEMODYALYSIS PATIENTS“, чији су аутори: Светлана Антић, Невена Драгичић, Милена Јовановић, Томислав Николић, Невена Јеремић, Владимир Живковић, Иван Срејовић, Дејан Петровић и Владимир Јаковљевић, који је у евиденцији редакције часописа SERBIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH, former title MEDICUS заведен под бројем SJECR-D-19-00065P1, након достављених стручних рецензија од компетентних рецензента, а које је одредило Уредништво часописа SERBIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH, поштујући принцип «слепе рецензије», ПРИХВАЋЕН ЗА ШТАМПУ и биће штампан у једном од наредних бројева Часописа.

DOI: 10.2478/sjecr-2019-0052

Надамо се да ћете и даље наставити сарадњу са Часописом.

С поштовањем,



ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК ЧАСОПИСА
SERBIAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL
AND CLINICAL RESEARCH

Medunijuf

RELATION BETWEEN OXIDATIVE STRESS AND CAROTID ARTERY ATHEROSCLEROSIS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

Svetlana Antić¹, Nevena Draginić², Milena Jovanović³, Tomislav Nikolić^{3,4}, Nevena Jeremić^{2,5}, Vladimir Živković², Ivan Srejšević³, Dejan Petrović^{4,6} and Vladimir Jakovljević^{5,7}

¹Clinic for Nephrology, Military Medical Academy Belgrade, Belgrade, Serbia

²University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Pharmacy, Kragujevac, Serbia

³University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Kragujevac, Serbia

⁴Center for Nephrology and Dialysis, Clinic for Urology and Nephrology, Clinical Center Kragujevac, Kragujevac, Serbia

⁵University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Physiology, Kragujevac, Serbia

⁶University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal Medicine, Kragujevac, Serbia

⁷1st Moscow State Medical University IM Sechenov, Department of Human Pathology, Moscow, Russia

POVEZANOST IZMEĐU OKSIDACIONOG STRESA I ATEROSKLEROZE KAROTIDNIH ARTERIJA KOD BOLESNIKA KOJI SE LEČE REDOVNOM HEMODIJALIZOM

Svetlana Antić¹, Nevena Draginić², Milena Jovanović³, Tomislav Nikolić^{3,4}, Nevena Jeremić^{2,5}, Vladimir Živković², Ivan Srejšević³, Dejan Petrović^{4,6} i Vladimir Jakovljević^{5,7}

¹Klinika za nefrologiju, Vojnomedicinska akademija Beograd, Beograd, Srbija

²Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Katedra za farmaciju, Kragujevac, Srbija

³Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Kragujevac, Srbija

⁴Centar za nefrologiju i dijalizu, Klinika za urologiju i nefrologiju, KC Kragujevac, Kragujevac, Srbija

⁵Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Katedra za fiziologiju, Kragujevac, Srbija

⁶Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Katedra za internu medicinu, Kragujevac, Srbija

⁷Prvi moskovski državni medicinski univerzitet IM Sečenov, Katedra za patologiju, Moskva, Rusija

Received/Primljen: 22.08.2019.

Accepted/Prihvaćen: 26.10.2019.

ABSTRACT

INTRODUCTION Oxidative stress represents a significant risk factor for the accelerated development of atherosclerosis in a population of patients on regular hemodialysis. Oxidative stress induced by hemodialysis can be triggered with both the bioincompatibility of dialysis membrane and increased endotoxin concentration in a hemodialysis solution. **AIM** The aim of this study was to investigate the correlation between the parameters of oxidative stress, microinflammation, nutrition, secondary hyperparathyroidism and carotid artery intima-media thickness in patients on regular hemodialysis. **METHODS** One hundred and twenty five patients treated with standard hemodialysis and on-line hemodiafiltration with "high-flux" polysulfone dialysis membrane were examined. The following parameters of oxidative stress were measured: index of lipid peroxidation - measured as TBARS, nitric oxide in the form of nitrite - NO_2^- , super oxide anion radical - O_2^- and hydrogen peroxide - H_2O_2 , catalase, superoxide dismutase (SOD) and reduced glutathione activity. For statistical analysis of results, the following tests were used: the Kolmogorov-Smirnov test, the Spirman test and the Pearson correlation test.

RESULTS Oxidative stress affects atherosclerosis of the carotid arteries in patients treated with regular hemodialysis and online hemodiafiltration. There is a statistically significant positive correlation between H_2O_2 concentration and the thickness of the carotid arteries' intima-media. High statistically significant positive correlation was found between TBARS concentration and carotid arteries intima-media thickness, while a high statistically significant negative correlation was found between SOD activity and a carotid artery intima-media thickness. There is a statistically significant negative correlation between the serum albumin and prealbumin concentration and a carotid artery intima-media thickness. **CONCLUSION** Oxidative stress may be a significant risk factor for the carotid artery atherosclerosis development in patients treated with regular hemodialysis.

Keywords: oxidative stress, atherosclerosis, hemodialysis



DOI: 10.2478/sjceer-2019-0052

Corresponding author:

PhD Dejan Petrović
Clinic for Urology, Nephrology and Dialysis,
CC Kragujevac, Zmaj Jovina 30, 34000 Kragujevac
dejanpetrovic@casibib.rs, 06437641-694

Download Date | 11/28/19 12:44 PM



SAŽETAK

UVOD Oksidacioni stres je značajan faktor rizika za razvoj ubrzane ateroskleroze u populaciji bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom. Dva glavna okidača oksidacionog stresa indukovano hemodijalizom su: bioinkompatibilnost dijalizne membrane i povećana koncentracija endotoksina u rastvoru za hemodijalizu. **CILJ** Rad je imao za cilj da ispita povezanost između parametara oksidacionog stresa, mikroinflamacije, nutricije, sekundarnog hiperparatireoidizma i debljine intima-medija karotidnih arterija u populaciji bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom. **METOD** Ispitano je 125 bolesnika koji se leče standardnom hemodijalizom i on-line hemodijafiltracijom sa "high-flux" polisulfonskim dijaliznim membranama. Glavni parametri oksidacionog stresa su: superoksidni anjon, vodonik peroksid, supstancije koje reaguju sa tiobarbiturnom kiselinom, azot monoksid, katalaza, superoksid dizmutaza i aktivnost redukovano glutationa. Za statističku analizu korišćeni su: Kolmogorov-Smirnov test, Spirman-ov test i Pearson-ov test korelacije.

REZULTATI Oksidacioni stres utiče na aterosklerozu karotidnih arterija kod bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom i on-line hemodijafiltracijom. Između H_2O_2 i debljine intima-medija karotidnih arterija postoji statistički značajna pozitivna povezanost. Visoko statistički značajna pozitivna povezanost je utvrđena između TBARS-a i debljine intima-medija karotidnih arterija, dok je visoko statistički značajna negativna povezanost utvrđena između SOD i debljine intima-medija karotidnih arterija. Između koncentracije albumina i prealbumina u serumu i debljine intima-medija karotidnih arterija postoji visoko statistički značajna negativna povezanost. **ZAKLJUČAK** Oksidacioni stres je značajan faktor rizika za razvoj ateroskleroze karotidnih arterija kod bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom.

Ključne reči: oksidacioni stres, ateroskleroza, hemodijaliza



INTRODUCTION

Cardiovascular disease remained the leading cause of death in patients treated with regular hemodialysis. Atherosclerotic heart disease and congestive heart failure are two clinical conditions that are the cause of death in more than 50% of these patients. There are traditional and non-traditional risk factors for the development of cardiovascular disease in this patient population. Non-traditional risk factors are associated with impaired renal function and hemodialysis procedures and they include the oxidative stress, microinflammation, malnutrition, endothelial dysfunction, uremic toxins, hyperhomocysteinemia, anemia, hypervolemia, vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism. Oxidative stress is one of the most significant non-traditional risk factors for the development of accelerated atherosclerosis in a population of patients treated with regular hemodialysis (1).

In these patients, the oxidative stress occurs due to the bioincompatibility of the hemodialysis membrane, the increased concentration of endotoxins in the hemodialysis solution, the intravenous application of iron solutions and reduced activity of enzymatic and non-enzymatic antioxidant protective mechanisms (2-4). During the hemodialysis session, activated cells of the innate immune system in peripheral blood (neutrophils, monocytes) generate reactive oxygen species (ROS) intensely and the capacity of endogenous

antioxidant protective mechanisms is reduced due to loss of water-soluble antioxidants (vitamin C) and oligoelements (antioxidant enzyme cofactors). Malnutrition also contributes to reduction of antioxidant protective mechanisms activity in the population of patients undergoing hemodialysis. Main clinical consequences of oxidative stress are the development of atherosclerosis, resistance to erythropoietin and the development of cardiovascular disease in patients treated with regular hemodialysis (4-7).

In addition to oxidative stress, a significant role in the development of a carotid artery atherosclerosis in patients on regular hemodialysis has the microinflammation, hyperhomocysteinemia, and malnutrition (4-8). Main factors for the development of microinflammation in these patients are: bioincompatibility of the extracorporeal circulation, the presence of endotoxin in the hemodialysis solution (reverse diffusion), asymptomatic infection of the arteriovenous fistula for hemodialysis, the periodontal disease and dislocation of bacteria and endotoxins from intestines to circulation, as a result of disruption of the gut microbiome (7, 8). Blood contact with the synthetic material of the extracorporeal circulation during the hemodialysis session causes constant leukocyte and the complement system activation, release of elastase, myeloperoxidase, pro-inflammatory mediators and ROS (8). Increased serum neutrophil elastase concentrations have been associated with microinflammation, shortened



erythrocyte lifetime (erythrocyte membrane disorder), resistance to erythropoietin and adverse outcomes in patients on regular hemodialysis (8). Oxidative stress and microinflammation are key factors for the development and progression of atherosclerotic cardiovascular disease in patients undergoing regular hemodialysis. Optimal control of the oxidative stress and microinflammation is a key step in reducing cardiovascular morbidity and mortality in this patients' population (8).

In patients who are on the regular hemodialysis program, the hyperhomocysteinemia is defined as a plasma homocysteine concentration of $> 15 \mu\text{mol/L}$, resulting from the decreased activity of enzymes crucial in homocysteine metabolism, such as 5-methyl-tetrahydrofolate reductase, methionine synthase, and γ -cystathionase. The reduced activity of these enzymes occurs due to a deficiency of vitamins B6, B12 and folic acid, which serve as cofactors of enzymes mentioned (insufficient intake, increased loss during the hemodialysis session) (9). Increased homocysteine concentration, oxidative stress (superoxide anion radical) and microinflammation block the activity of the dimethyl diamino-hydrolase enzyme (DDHA) in endothelial cells, which degrades asymmetric dimethylarginine - ADMA (dimethylarginine) to L-citrulline and methionine. Asymmetric dimethylarginine is the most significant endogenous nitric oxide synthase blocker while the reduced nitric oxide formation in endothelial cells plays a key role in initiating the process of atherosclerosis. In addition, the superoxide anion oxidizes tetrahydrobiopterin (an endogenous NO synthase cofactor) and thus further reduces NO synthase activity and contributes to accelerating the process of atherosclerosis. Endothelial dysfunction plays a key role in the pathogenesis of atherosclerotic cardiovascular disease in a population of patients undergoing regular hemodialysis. Clinical trial results indicate a statistically significant positive association between the asymmetric dimethylarginine concentration and carotid artery intima-media thickness (10).

Malnutrition as a result of protein deficiency - PEW (Protein-Energy Wasting) is present among 30-60% of patients undergoing regular hemodialysis. According to the International Society of Renal Nutrition and Metabolism (ISRNM) guidelines, PEW exists if: the serum albumin concentration is $< 0.38 \text{ g/L}$, the serum prealbumin concentration $< 0.30 \text{ g/L}$, the total cholesterol concentration $< 100 \text{ mg/dL}$, the body mass index less than 23 kg/m^2 , the unintentional weight loss $\geq 5\%$ over three months and the protein intake less than 0.8 g/kg/day . PEW results from reduced intake and increased protein catabolism. Risk factors that promote protein catabolism in patients undergoing regular hemodialysis include: the metabolic acidosis, microinflammation, and oxidative stress (11).

Carotid artery atherosclerosis is defined as an intima-media thickness (IMT) of $> 0.90 \text{ mm}$, as measured by the ultrasound examination of carotid arteries. Based on the color Doppler ultrasonography, the atherosclerotic carotid artery disease is classified into four stages: stage I: $\text{IMT} < 0.9 \text{ mm}$,

grade II: $\text{IMT} > 0.9 \text{ mm}$, stage III: the presence of atherosclerotic plaques with a stenosis $\leq 50\%$ and stage IV: the presence of atherosclerotic plaques with stenosis $> 50\%$. The presence of plaque is defined as a structure that protrudes into the carotid artery lumen at least 0.5 mm (5).

Hemodialysis membranes play a key role in preventing the development of oxidative stress, microinflammation, and malnutrition in patients treated with regular hemodialysis. High-flux hemodialysis membranes have a greater number of advantages over low-flux membranes: they are more biocompatible, better remove small and medium molecular weight uremic toxins, have a less degree of neutrophil activation and complement systems (less potential to produce proinflammatory cytokines and acute phase proteins inflammation), provide less resistance to erythropoietin and better preserve residual renal function (8). High-flux membranes improve quality of life and provide a better long-term outcome for patients treated with regular hemodialysis (8). Vitamin E-coated membranes for the hemodialysis reduce microinflammation (reduce serum interleukin 6 concentration), prevent lipid peroxidation (decrease serum TBARS concentration), increase iron availability for erythropoiesis (reduce hepcidin concentration in erythropoietic) and reduce resistance to erythropoietin.

The aim of this study was to investigate the correlation between parameters of oxidative stress, microinflammation, malnutrition, secondary hyperparathyroidism, and carotid artery intima-media thickness in regular hemodialysis patients.

PATIENTS AND METHODS

The study included 125 patients treated with regular hemodialysis and on-line hemodiafiltration at the Center for Nephrology and Dialysis of the Clinical Center Kragujevac. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki for Medical Research, the consent was obtained from patients and the Ethics Committee of the Clinical Center Kragujevac. Patients treated with regular hemodialysis and on-line hemodiafiltration were examined 2-3 times a week for 4 hours (8-12h per week), for a period longer than three months, with "high-flux" membranes (for regular hemodialysis: polysulfone high-flow membrane with surface area $1.4\text{-}1.7 \text{ m}^2$, for hemodiafiltration: polysulfone "high-flux" membrane with surface area $2.0\text{-}2.4 \text{ m}^2$). Dialysis machines used in study were with controlled ultrafiltration type Fresenius 5008S, Gambro Artis and BBraun, with average blood flow rate - $Q_b = 222.80 \pm 25.89 \text{ mL/min}$ and average dialysate flow rate - $Q_d = 500 \text{ mL/min}$. A standard ultra-pure hemodialysis solution (endotoxin concentration - $E < 0.03 \text{ EU/ml}$) was used, with a calcium concentration of 1.75 mmol/L (PGS21), 1.50 mmol/L (PGS25) and 1.25 mmol/L (PGS27) while convective volume in patients treated with on-line hemodiafiltration was $V_{\text{conv}} = 17$ liters per session. Unfractionated heparin was used for anticoagulation of the extracorporeal circulation. The average monthly dose of unfractionated heparin for single hemodialysis was $4418.00 \pm 525.34 \text{ IU}$. The study did not include patients with the



manifested active bleeding, active systemic inflammation or infection (average leukocyte count was $7.06 \pm 1.56 \times 10^9/l$), with uncontrolled malignancies, or patients treated with immunosuppressive and antioxidant medications.

In order to evaluate the effect of oxidative stress, microinflammation, nutrition and secondary hyperparathyroidism on the intima-media thickness of the carotid artery the following parameters were investigated: index of lipid peroxidation - measured as TBARS (thiobarbituric acid reactive substances), nitric oxide in the form of nitrite - NO_2^- , super oxide anion radical - O_2^- and hydrogen peroxide - H_2O_2 , catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and reduced glutathione activity (GSH), hemoglobin, hematocrit, iron, ferritin, transferrin saturation with iron, C-reactive protein, albumin, prealbumin, transferrin, intact parathormone (iPTH) and vitamin D. Hemodialysis adequacy was evaluated based on the spKt/V urea index.

Determination of serum laboratory analyzes

Blood samples were taken before and after each hemodialysis session, before administration of heparin. Routine laboratory analyzes were determined by standard laboratory tests and calculated as an average value of three measurements over three consecutive months.

The serum ferritin concentration was determined by the turbidimetric method, on the Beckman Coulter AU680 apparatus. In patients treated with regular hemodialysis, the normal serum ferritin concentration is 100-500 ng/mL. The serum CRP concentration was determined by the turbidimetric method on the Olympus AU680 and calculated as the average value of two measurements over two consecutive months. Normal serum CRP concentration is ≤ 5 mg/L. Microinflammation is defined as the concentration of CRP in the serum of > 5 mg/L. The concentration of vitamin D in the serum was determined by electrochemiluminescence, on the Cobas e 411. Normal vitamin D concentration in the serum is 20-40 ng/mL. In patients treated with regular hemodialysis, the normal vitamin D concentration is ≥ 30 ng/mL (30-80 ng/mL). A severe deficit is defined as the concentration of vitamin D < 10 ng/mL, vitamin D deficiency exists if the concentration is 10-20 ng/mL, and the insufficiency is defined as the concentration of vitamin D in the serum of 20-30 ng/mL. Concentration of an intact parathormone in the serum was determined by the immunodiathymetric method (IRMA), on the gamma counter WALLAC WIZARD 1470. Normal concentration of the intact parathormone in the serum is 11.8-64.5 pg/mL. In patients with hemodialysis the upper normal limit is 300 pg/mL.

Folate and vitamine B12 were determined on the Access 2 Analyzer by Beckman Coulter using chemiluminescent immunoassay. Prealbumine and albumine were determined on the Abbott an Architect analyzer using prealbumin and transferrin immunoturbidimetric method. Normal concentration of prealbumine in hemodialysis patients is ≥ 0.3 g/L (≥ 30 mg/dL)

Determination of parameters of oxidative stress in plasma

The principle of the determination of superoxide anion (O_2^-) in blood plasma samples uses the O_2 reaction with nitro tetrazolium blue (Nitro Blue Tetrazolium - NBT) to nitroformase blue. The measurement was performed at a wavelength $\lambda = 550$ nm (12).

Method for determining the concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2) is based on the oxidation of phenol red by the hydrogen peroxide reaction, which catalyses Horse Radish Peroxidase (HRPO). The final result of this reaction is the formation of a compound with a maximum absorption λ max = 610 nm (13). Determination of the lipid peroxidation index was carried out indirectly through products of the lipid peroxidation reaction with thiobarbituric acid (Thiobarbituric Acid Reactive Substances- TBARS). The principle of this method is based on the determination of lipid peroxide levels based on the reaction of one of them, malonildialdehyde (MDA) with thiobarbutyric acid (TBA). The measurement was performed at a wavelength $\lambda = 530$ nm (14). The concentration of nitrogen monoxide (NO) was determined based on the amount nitrites released. The principle of this method involves the use of a Griess reagent, which builds a diazo complex with nitrites, which gives the purple color. Measurement was performed at a wavelength $\lambda = 550$ nm (15).

Determination of parameters of antioxidant defense system

An adrenaline method was used to determine the activity of SOD. The principle of this method, which normally belongs to the group of the "negative" type is to monitor the reduction in the rate of adrenaline autoxidation in the alkaline environment, which is O_2^- dependent. Considering that O_2^- is removed by the present SOD, the adrenaline autoxidation reaction is inhibited. The system monitors the rate of adrenaline autoxidation change through the change in absorbance at 480 nm, which is inversely proportional to SOD activity (16). The Beutler method was used to determine the catalase activity. The principle is the spectrophotometric monitoring of the rate of the hydrogen peroxide decomposition in the presence of catalase at a wavelength of 230 nm, in which hydrogen peroxide absorbs light. For the determination of reduced glutathione (GSH) activity, the Beutler spectrophotometric method was used. The principle of the method is based on the oxidation of glutathione GSH by 5,5-dithio-bis-6,2-nitrobenzoic acid (DTNB) (17).

Determination of parameters of hemodialysis adequacy

Hemodialysis adequacy was assessed on the basis of the single-pool Kt/Vsp index calculated according to Daugridas second-generation formula: $Kt/V_{sp} = -\ln(C_2/C_1 - 0.008 \times T) + (4 - 3.5 \times C_2/C_1) \times UF / W$ (mmol/L), T - hemodialysis duration (h), UF - interdalytic weight gain (L), W - body weight after the hemodialysis (kg). According to KDOQI guidelines, hemodialysis is adequate if Kt/Vsp is ≥ 1.2 . Urea reduction rate index - URR index is calculated using the



following formula: $URR = (1-R) \times 100\%$, where: R represents the ratio of urea concentration in the serum after and before the hemodialysis treatment. Hemodialysis is adequate if the URR index is = 65-70%.

Determination of blood flow and thickness of a carotid artery intima-media

The blood flow through the vascular approach - Qavf was determined by the Color Doppler ultrasound scan, on the Logic P5 apparatus, using a 7.5 MHz probe, wherein the blood flow is calculated from the formula: $Qavf = r^2 \pi / 4 \times Vmean \times 60$ (mL/min), r - radius of vascular access, and Vmean - mean blood flow velocity through vascular approach. The blood flow is calculated as the average of three measurements, 2-4 cm on the vein vascular approach, proximal to the anastomosis site. The blood flow through a vascular approach that provides adequate hemodialysis is 500-1000 mL/min. The thickness of a carotid artery intima-media (IMT) was determined by the Color Doppler ultrasonic examination, on the Logic P5 apparatus, using a 7.5MHz probe, as the average value of three individual measurements on the right and left carotid arteries. Measurements were performed 1-2 cm below the bifurcation of carotid arteries by the same ultrasound. The normal thickness of the intima-media is defined as a value of less than 0.9 mm.

Tests used for the statistical analyses of the obtained data were as follows: the Kolmogorov-Smirnov test, the Spearman test and the Pearson correlation test. Significance threshold was probability of 0.05 and 0.01.

RESULTS

A cross-sectional study was conducted at the Center for Nephrology and Dialysis of the Clinical Center Kragujevac. The study included patients treated with regular hemodialysis and on-line hemodiafiltration for a period longer than three months. Investigated population (n=125) included 78 male and 47 female patients, an average age of 62.83 ± 10.49 years with the mean dialysis treatment length 6.51 ± 6.12 years, the mean nutrition status 25.86 ± 4.60 kg/m² and with an average dialysis adequacy index spKtV 1.24 ± 0.29 . General data on patients are presented in Table 1.

For anemia treatment short-acting and long-acting erythropoietins, an intravenous iron preparation, vitamin B preparation and folic acid (per os) were used. The average monthly dose of short-acting erythropoietin was 20538.46 ± 10716.42 IU, long-acting erythropoietin 134.89 ± 71.88 µg, the average monthly dose of intravenous iron was 273.91 ± 162.38 mg, the average monthly dose of i.v. of vitamin C was 1420.00 ± 184.04 mg, the average monthly number of ampoules of Beviplex was 11.36 ± 1.47 , the average monthly dose of vitamin B12 was 3060 ± 1874.70 µg and the average monthly dose of folic acid was 187.20 ± 65.04 mg. The secondary hyperparathyroidism was treated with calcium-

containing phosphate binders, active vitamin D metabolites, and paricalcitol. The average monthly dose of rocalcitol was 2.56 ± 3.86 µg, and the i.v. paricalcitol 1.04 ± 6.70 µg. For the treatment of arterial hypertension, 81 (64.80%) patients used renin-angiotensin system blockers (mainly angiotensin converting enzyme blockers), 62 (49.60%) beta blockers, 46 (36.80%) loop diuretics and 44 (35.20%) calcium channel blockers.

A hundred and one patients (80.80%) were treated with the standard intermittent high-flux hemodialysis, and 24 (19.20%) patients were treated with the postdilution on-line hemodiafiltration. For the postdilution on-line hemodiafiltration treatment, 24 (19.20%) patients were using dialysers with a high-flux polysulfone membrane of 2.0-24m², while other patients (101 patients, 80.80%) were treated with a "high-flux" hemodialysis using a high-flux polysulfone dialyser membrane 1.4-1.8m². While 113 patients used hemodialysis solution with a calcium (Ca²⁺) concentration of 1.75 mmol/L (PGS21), 9 patients had Ca²⁺ concentration in the hemodialysis solution was 1.50 mmol/L (PGS25), and only 3 patients used a solution with Ca²⁺ concentration 1.25 mmol/L (PGS27). The Na⁺ sodium concentration in the hemodialysis solution was 140 mmol/L and the K⁺ concentration was 2.0 mmol/L.

The average values of the anemia parameters, iron status, microinflammation, nutritional status, secondary hyperparathyroidism and ultrasound examination of the carotid arteries are shown in Table 2. In order to assess the effect of oxidative stress on atherosclerosis of the carotid arteries, the following parameters were examined: the hydrogen-peroxide (H₂O₂), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), nitrites (NO₂⁻), the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), the reduced glutathione activity (GSH) and the carotid artery intima-media thickness. Average values of the investigated parameters of oxidative stress are shown in Table 2.

There was a statistically significant ($p < 0.05$) positive correlation noticed between the serum H₂O₂ concentration and the carotid intima-media thickness. In addition, the high statistically significant ($p < 0.01$) positive correlation was found between the serum TBARS concentration and the carotid artery intima-media thickness, while a significant ($p < 0.01$) negative association was found between the SOD activity and intima-media thickness of carotid arteries, (Table 3). Significant ($p < 0.01$) positive correlation between the prealbumin and serum albumin concentrations was found, while the high statistically significant ($p < 0.01$) negative correlation was noticed between the serum albumin and prealbumin concentration and carotid intima-media thickness (Table 4). Among the other parameters tested and carotid artery intima-media thickness, no statistically significant correlation was found (Table 4).



Table 1. Basic characteristics of study population

GENERAL DATA		Statistical parameters
		Xsr ± SD
Number (N)		125
Gender (m/f %)		78/47 (62.40%/37.60%)
Age (years)		62.81 ± 10.44
Hemodialysis treatment length (years)		6.51 ± 6.12
Body mass index - BMI (kg/m ²)		25.86 ± 4.60
Systolic arterial blood pressure - SBP(mmHg)		127.64 ± 15.77
Diastolic arterial blood pressure - DBP (mmHg)		76.16 ± 7.49
Mean arterial blood pressure- MBP (mmHg)		93.32 ± 9.54
Body weight - W (kg)		72.02 ± 14.70
Interdiaytic weight gain - IDWG (kg)		2.44 ± 1.11
Interdiaytic weight gain - IDWG (%)		3.45 ± 1.58
Ultrafiltration rate - UFR (ml/kg/h)		8.64 ± 3.94
Ultrafiltration rate - UF (mL/h)		610.93 ± 275.26
Residual diuresis - RD (mL/24h)		652.40 ± 683.40
Arteriovenous fistula flow - Qavf (mL/min)		845.60 ± 433.35
Hemodialysis adequacy index - Kt/V		1.10 ± 0.24
Single pool hemodialysis adequacy index - spKt/V		1.24 ± 0.29
Urea reduction ratio - URR (%)		63.87 ± 8.62
Primary kidney disease	Glomerulonephritis chronica	11 (8.80%)
	Nephropathia hypertensiva	40 (32.00%)
	Nephropathia diabetica	19 (15.20%)
	Nephropathia obstructiva	8 (6.40%)
	Nephropathia chronica	27 (21.60%)
	Renes polycystici	20 (16.00%)
Comorbidity		
Hypertensio arterialis		75 (60.00%)
Cor hypertensivum compensatum		20 (16.00%)
Cardiomyopathia dilatativa		5 (4.00%)
Hypotensio arterialis		5 (4.00%)
Diabetes mellitus complicatus		20 (16.00%)

Table 2. General investigated final parameters of oxidative stress

INVESTIGATED PARAMETERS	Statistical parameters
	Xsr ± SD
Hemoglobin - Hb (g/L)	104.05 ± 12.28
Hematocrit - Hct (%)	31.52 ± 3.83
Mean corpuscular volume - MCV (fL)	93.89 ± 4.51
Mean corpuscular hemoglobin - MCH (pg)	30.98 ± 1.62
Mean corpuscular hemoglobin concentration - MCHC (g/L)	329.96 ± 5.09
Vitamine B12 serum concentration - VitB12 (pg/mL)	999.78 ± 516.38
Folic acid serum concentration - FOL (ng/mL)	22.48 ± 11.49
Iron serum concentration - Fe ²⁺ (µmol/L)	10.05 ± 4.16
Transferrin saturation - TSAT (%)	28.30 ± 11.48
Feritin serum concentration - F (ng/mL)	745.50 ± 344.60
C-reactive protein - CRP (mg/L)	10.57 ± 12.23
Serum protein concentration - P (g/L)	64.36 ± 4.66
Albumine serum concentration - Alb (g/L)	38.10 ± 3.03



INVESTIGATED PARAMETERS	Statistical parameters
	Xsr ± SD
Prealbumina serum concentration - Palb (g/L)	0.28 ± 0.09
Transferin serum concentration - Trsf (g/L)	1.56 ± 0.34
Uric acid serum concentration - UA (µmol/L)	366.92 ± 59.06
Normalised protein catabolic rate - nPCR (g/kg/dan)	1.76 ± 0.66
Vitamine D serum concentration - VitD (ng/mL)	17.88 ± 9.63
Intact parathormon serum concentration - iPTH (pg/mL)	175.13 ± 199.85
Superoxide anion radical - O ₂ ⁻ (nmol/mL)	3.58 ± 4.90
Hydrogene peroxide - H ₂ O ₂ (nmol/mL)	4.65 ± 1.62
Thiobarbituric acid - TBARS (µmol/mL)	1.14 ± 0.23
Nitrites - NO ₂ ⁻ (nmol/mL)	3.81 ± 1.33
Reduced glutathione - GSH (nmol/mL)	119500.29 ± 17525.20
Catalase - CAT (U/gHb x 10 ⁴)	2.22 ± 1.88
Superoxide dismutase SOD (U/gHb x 10 ⁴)	32.82 ± 20.67
Average intima-media thickness DKA - IMT (mm)	1.24 ± 0.29
Average intima-media thickness LKA - IMT (mm)	1.27 ± 0.31
Average intima-media thickness KA - IMT (mm)	1.25 ± 0.28

Table 3. Correlation between carotid artery intima-media thickness and oxidative stress parameters

Measured parameters	Basic statistical parameters		Significance (p-value)
	Xsr ± SD	N	
Superoxide anion radical - O ₂ ⁻ (nmol/mL)	3.58 ± 4.90	125	r _{emp} = 0.002 p = 0.984
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Hydrogene peroxide - H ₂ O ₂ (nmol/mL)	4.65 ± 1.62	125	r _{emp} = 0.190 p = 0.034
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Thiobarbituric acid - TBARS reactive substances (µmol/mL)	1.14 ± 0.23	125	r _{emp} = 0.550 p = 0.0001
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Nitrites - NO ₂ ⁻ (nmol/mL)	3.81 ± 1.33	125	r _{emp} = -0.131 p = 0.144
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Reduced glutathione - GSH (nmol/mL)	119500.29 ± 17525.20	125	r _{emp} = 0.112 p = 0.214
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Catalase - CAT (U/gHb x 10 ⁴)	2.22 ± 1.88	125	r _{emp} = 0.04 p = 0.963
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Superoxide dismutase - SOD (U/gHb x 10 ⁴)	32.82 ± 20.67	125	r _{emp} = -0.310 p = 0.0001
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28		

Table 4. Correlation between parameters of microinflammation, nutrition and secondary hyperparathyroidism and carotid artery intima-media thickness

Measured parameters	Basic statistical parameters		Significance (p-value)
	Xsr ± SD	N	
C-reactive protein - CRP (mg/L)	10.57 ± 12.23	125	r _{emp} = 0.038 p = 0.673
Intima-media thickness - IMT (mm)	1.25 ± 0.28		
Albumine -ALB (g/L)	38.00 ± 3.02	125	r _{emp} = -0.245



Measured parameters	Basic statistical parameters		Significance (p-value)
	X _{sr} ± SD	N	
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28	125	p = 0.006
Prealbumine - PALB (g/L)	0.28 ± 0.09		125
intima-media thickness -IMT (mm)	1.25 ± 0.28	125	
Transferine - TRSF (g/L)	1.50 ± 0.34		125
Intima-media thickness- IMT (mm)	1.25 ± 0.28	125	
Vitamin D - VitD (ng/mL)	17.88 ± 9.63		125
Intima-media thickness - IMT (mm)	1.25 ± 0.28	125	
Intact parathormon - iPTH (pg/mL)	175.13 ± 199.85		125
Intima-media thickness - IMT (mm)	1.25 ± 0.28	125	
Albumine - ALB (g/L)	38.00 ± 3.02		125
Prealbumine - PALB (g/L)	0.28 ± 0.09	125	

DISCUSSION

Cardiovascular diseases are the most common complications and a leading cause of death in patients with the end-stage chronic kidney disease treated with regular hemodialysis. Cardiovascular mortality in these patients is up to 20 times higher than in the general population. The first step in the prevention and treatment of these patients is good understanding of non-traditional risk factors for the development of the cardiovascular disease (18). Uremic toxins, oxidative stress, microinflammation, malnutrition and endothelial dysfunction are the most significant non-traditional risk factors for the development of atherosclerotic cardiovascular disease in patients undergoing regular hemodialysis. Uremic toxins cause enhanced leukocyte activation (increased leukocyte oxidation and proinflammatory activity), the upregulation in leukocyte-endothelial interactions and mononuclear cell infiltration into atherosclerotic vascular lesions. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), indoxyl sulfate (IP) and p-cresyl sulfate (pCS) are uremic toxins that exert a prooxidative and proinflammatory effect through inhibition of nitric oxide production in endothelial cells and have high atherogenic potential (via accelerating the progression of endothelial dysfunction) (18, 19).

The degree of biocompatibility of the dialysis membrane significantly impacts oxidative stress and microinflammation in patients treated with regular hemodialysis. Results of the studies that have compared the effect of two different dialysis membranes on oxidative stress have shown that the hemodialysis session with a high-flux polysulfone membrane significantly decreases the formation of oxygen free radicals during hemodialysis compared to a low-flux polysulfone membrane (21). The hemodialysis session with a high-flux polysulfone membrane provides better control of the neutrophil function than a low-flux polysulfone membrane (22). Besides

the biocompatibility of the dialysis membrane and the presence of endotoxin in the hemodialysis solution, the development of uncontrolled and permanent microinflammation in the population of patients treated with regular hemodialysis is also affected by: uremic toxins, asymptomatic infection of the arteriovenous fistula for hemodialysis, periodontal disease and dislocation of bacteria and endotoxins from intestines to circulation as a result of disruption of the gut microbiome (23).

B-mode ultrasonography of the carotid arteries has been used as a non-invasive diagnostic procedure for the evaluation of atherosclerosis. Patients treated with regular hemodialysis have a significantly higher thickness of the carotid artery intima-media than the general population (absence of kidney disease) (24). Hypoalbuminemia is a good predictor of cardiovascular mortality in patients treated with the regular hemodialysis. In patients with hypoalbuminemia, microinflammatory and oxidative stress, parameters were significantly increased. Results of this study showed that there was a highly statistically significant ($p < 0.01$) positive association between the serum albumin and prealbumin concentrations. A high statistically significant ($p < 0.01$) negative correlation was found between the serum albumin and prealbumin and intima-media thickness, which is consistent with the results of studies to date, which also confirmed a statistically significant negative correlation with nutritional parameters in patients undergoing the regular hemodialysis (24, 25). In the population of patients undergoing the regular hemodialysis, the thickness of the carotid artery intima-media has a statistically significant positive correlation with the concentration of C-reactive protein and proinflammatory cytokines in serum (24). Results of this study showed no significant positive correlation with the carotid artery intima-



media thickness, indicating the need to measure more sensitive microinflammatory parameters in a population of patients undergoing the regular hemodialysis, such as pro-inflammatory cytokines (IL-6, TNF- α). Lipid peroxidation plays a significant role in the process of atherosclerosis. Results of this study are in line with the results of other studies done so far, which also showed a statistically significant positive relationship between the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and the carotid intima-media thickness in patients treated with the regular hemodialysis (26, 27). A highly statistically significant ($p < 0.01$) negative association was demonstrated between the superoxide dismutase activity in erythrocytes and the carotid artery intima-media thickness, which is in accordance with results of the other authors (25). Between the parameter of oxidative DNA damage (Deoxyribonucleic Acid), 8-OHdG/dG (8-hydroxy-2-deoxyguanosine/deoxyguanosine) ratio, serum malondialdehyde concentration, and carotid artery intima-media thickness in hemodialysis patients a statistically significant positive association was found (28). Carotid artery ultrasound, measurement of cITM (Carotid Intima-Media Thickness) and detection of atherosclerotic plaques are important for assessing the health of the entire arterial vasculature in patients undergoing the regular hemodialysis (29). According to the recommendations of the EAEMP (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products), cITM is accepted as a surrogate marker of atherosclerosis, while according to the recommendations of the National Kidney Foundation Kidney Disease Quality Initiative (NKF-DOQI), the carotid artery ultrasound is used for the accurate assessment of cardiovascular artery status in patients treated with the regular hemodialysis, and it can also be used to evaluate vascular calcifications (28, 29). Several investigations have suggested and proved that the dialysis modality and the type of hemodialysis membranes have effects on oxidative stress and microinflammation. For example, the post-dilution on-line hemodiafiltration reduces microinflammation, increases the availability of iron for erythropoiesis, reduces erythropoietin resistance, improves nutritional status, the quality of life and the patient outcome compared to the conventional hemodialysis (30). Hemodialysis with a vitamin E-coated membrane over a six-month period significantly reduces the concentration of serum C-reactive protein, interleukin-6, Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 (sICAM1), TBARS and the oxidized LDL cholesterol - oxLDL. During follow-up, no significant effect on the endothelial cell apoptosis was achieved (31). During the high-flux hemodialysis session and post-dilution on-line hemodiafiltration, a significant amount of vitamin C and oligoelements, which are cofactors of antioxidant enzymes are lost (32). Results of the studies so far have shown that zinc supplementation at a dose of 100 mg/day for eight weeks significantly improves the superoxide dismutase (SOD) activity and significantly reduces the serum malondialdehyde (MDA) concentration. Additionally, selenium supplementation at a dose of 200 μ g/day for 12 weeks significantly enhances the glutathione peroxidase (Gpx) activity in erythrocytes (32).

CONCLUSION

Oxidative stress and malnutrition play a significant role in the development of a carotid artery atherosclerosis in patients undergoing the regular hemodialysis. Statistically significant positive correlation was found between the thickness of carotid arteries intima-media and TBARS plasma concentration, while a high statistically significant negative correlation was found between the SOD activity in erythrocytes and the thickness of carotid arteries intima-media. This indicates the importance of lipid peroxidation in the development of atherosclerosis and atherosclerotic cardiovascular disease in a population of patients treated with the regular hemodialysis. A high statistically significant positive correlation between the serum prealbumin and albumin concentration and the carotid artery intima-media thickness highlights the importance of malnutrition in development. Thus, oxidative stress and malnutrition, both individually and together, significantly contribute to the development and acceleration of atherosclerosis and increase the risk of cardiovascular morbidity and mortality in patients undergoing the regular hemodialysis. A high-flux hemodialysis and on-line post-dilution hemodiafiltration could ensure an optimal control of oxidative stress and malnutrition. The control of oxidative stress might be better when using membranes for hemodialysis coated with antioxidants such as vitamin E, along with the substitution of vitamin C and oligoelements, zinc and selenium.

ACKNOWLEDGMENTS

Authors would like to express their deepest gratitude to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for the Grant N^o175014 and also to the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac for their Junior Grant N^o02/19 from which the funds were used as one of the sources to support financially this paper.

REFERENCES

1. Cozzolino M, Galassi A, Pivari F, et al (2017). Cardiovascular Burden in End-Stage Renal Disease. Ronco C (ed). In: Expanded Hemodialysis-Innovative Clinical Approach in Dialysis. Contrib Nephrol. Basel, Karger. 191: 44-57. DOI: 10.1159/000479250.
2. Descamps-Latscha B, Drücke T, Witko-Sarsat V (2001). Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. Semin Dial. 14(3): 793-9. DOI: 10.1046/j.1525-139X.200100052.x.
3. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, et al. (2017). Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. Oxidative Med Cell Long. 2017: 3081856. DOI: 10.1155/2017/3081856.



4. Antić S, Draginić N, Nikolić T, et al. (2019). Oxidative stress in hemodialysis patients: pathophysiological mechanisms, clinical consequences and basic principles of treatment. *Ser J Exp Clin Res*. DOI: 10.2478/sjcecr-2019-0008.
5. Papagiani A, Kalovoulos M, Kirmizis D, et al. (2003). Carotid atherosclerosis is associated with inflammation and endothelial cell adhesion molecules in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 18(1): 113-9. DOI: 10.1093/ndt/18.1.113.
6. Collado S, Coll E, Nicolau C, et al. (2015). Carotid Atherosclerosis Disease Predicts Cardiovascular Events in Hemodialysis Patients: A Prospective Study. *Plos ONE*. 10(6): e0127344. DOI: 10.1371/journal.pone.0127344.
7. Cobo G, Lindholm B, Stenvinkel P. (2018). Chronic inflammation in end-stage renal disease and dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 33(Suppl 3): 35-40. DOI: 10.1093/ndt/gfy175.
8. Kohlova M, Santos-Silva A, Amorim C, et al. (2019). Biocompatibility and bioactivity of hemodialysis membranes: their impact in end-stage renal disease. *J Artif Organs*. 22(1): 14-28. DOI: 10.1007/s10047-018-1059-9.
9. Tain YL, Hsu CN. (2017). Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins*. 9: 92. DOI: 10.3390/toxins9030092.
10. Wang F, Xiong R, Feng S, et al. (2018). Association of Circulating Levels of ADMA with Carotid Intima-Media Thickness in Patients with CKD: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Kidney Blood Press Res*. 43(1): 25-33. DOI: 10.1159/000486743.
11. Ikizler TA, Cano NJ, Franch H, et al. (2013). Prevention and treatment of protein energy wasting in chronic kidney disease patients: a consensus statement by the International Society of Renal Nutrition and Metabolism. *Kidney Int*. 84(6): 1096-107. DOI: 10.1038/ki.2013.147.
12. Auclair C, Voisin E. (1985). Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, ed. *Handbook of methods for oxygen radical research*. In: Boca Raton, CRC Press. 123-32.
13. Pick E, Keisari Y. (1980). A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods*. 38(1-2): 161-70.
14. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1975). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 95(2): 351-8.
15. Green LC, Wagner, DA, Glogowski J, et al. (1982). Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 126(1): 131-8.
16. Misra HP, Fridovich I. (1972). The role of superoxide-anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 247(10): 3170-5.
17. Beutler E. (1984). *Red cell metabolism: a manual of biochemical methods*. 3rd ed. New York: Grune and Stratton Inc.
18. Cozzolino M, Mangano M, Stucchi A, et al. (2018). Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 33(Suppl 3): 28-34. DOI: 10.1093/ndt/gfy174.
19. La Russa D, Pellegrino D, Montesanto A, et al. (2019). Oxidative Balance and Inflammation in Hemodialysis Patients: Biomarkers of Cardiovascular Risk? *Oxidative Med Cell Long*. 2019: 8567275. DOI: 10.1155/2019/8567275.
20. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Zarogiannis S, et al. (2019). Oxidative stress in hemodialysis: Causative mechanisms, clinical implications, and possible therapeutic interventions. *Semin Dial*. 32(1): 58-71. DOI: 10.1111/sdi.12745.
21. Aziz MA, Majeed GH, Diab KS, et al. (2016). Al-Tamimi RJ. The association of oxidant-antioxidant status in patients with chronic renal failure. *Ren Fail*. 38(1): 20-6. DOI: 10.3109/0886022X.2015.1103654.
22. Ling XC, Kuo KL. (2018). Oxidative stress in chronic kidney disease. *Ren Replacement Ther*. 4: 53. DOI: 10.1186/s41100-018-0195-2.
23. Cobo G, Lindholm B, Stenvinkel P. (2018). Chronic inflammation in end-stage renal disease and dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 33(Suppl 3): 35-40. DOI: 10.1093/ndt/gfy175.
24. Kato A, Takita T, Maruyama Y, et al. (2003). Impact of carotid atherosclerosis on long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 64(4): 1472-9. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2003.00205.x.
25. Danielski M, Ikizler TA, McMonagle E, et al. (2003). Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Am J Kidney Dis*. 42(2): 286-94. DOI: 10.1016/S0272-6386(03)00653-X.
26. Dursun B, Dursun E, Suleymanlar G, et al. (2008). Carotid artery intima-media thickness correlates with oxidative stress in chronic haemodialysis patients with accelerated atherosclerosis. *Nephrol Dial Transplant*. 23(5): 1697-703. DOI: 10.1093/ndt/gfm906.
27. Gosmanova EO, Le NA. (2011). Cardiovascular Complications in CKD Patients: Role of Oxidative Stress. *Cardiol Res Pract*. 2011: 156326. DOI: 10.4061/2011/156326.
28. Ari E, Kaya Y, Demir H, et al. (2011). Oxidative DNA damage correlates with carotid artery atherosclerosis in hemodialysis patients. *Hemodialysis Int*. 15(4): 453-9. DOI: 10.1111/j.1542-4758.2011.00568x.
29. Betriu-Bars A, Fernandez-Giraldez E. (2012). Carotid ultrasound for the early diagnosis of atherosclerosis in chronic kidney disease. *Nefrologia*. 32(1): 7-11. DOI: 10.3265/Nefrologia.pre2011.Dec.11258.
30. Davenport A. (2016). Effects of Hemodiafiltration of Inflammation and Oxidative Stress. In: *Hemodiafiltration*. Eds.: Nube MJ, Grooteman MPC, Blankestijn PJ. Switzerland: Springer International Publishing. 2016: 153-63. DOI: 10.1007/978-3-319-23332-1.



31. Kirmizis D, Papagianni A, Belechri AM, et al. (2011). Effects of vitamin E-coated membrane dialyser on markers of oxidative stress and inflammation in patients on chronic hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 26(7): 2296-301. DOI: 10.1093/ndt/gfq715.
32. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Bozikas A, et al. (2019). Antioxidant Supplementation in Renal Replacement Therapy Patients: Is There Evidence? *Oxidative Med Cell Long.* 2019: 9109473. DOI: 10.1155/2019/9109473.



VOJNOSANITETSKI PREGLED

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA

Crnotravska 17, 11 000 **Beograd, Srbija**

Tel/faks: +381 11 2669689

vsp@vma.mod.gov.rs

ACCEPTED MANUSCRIPT

Accepted manuscripts are the articles in press that have been peer reviewed and accepted for publication by the Editorial Board of the *Vojnosanitetski Pregled*. They have not yet been copy edited and/or formatted in the publication house style, and the text could still be changed before final publication.

Although accepted manuscripts do not yet have all bibliographic details available, they can already be cited using the year of online publication and the DOI, as follows: article title, the author(s), publication (year), the DOI.

Please cite this article **THE INFLUENCE OF VITAMIN E COATED DIALYSIS MEMBRANE ON OXIDATIVE STRESS DURING THE SINGLE SESSION OF ON-LINE HEMODIAFILTRATION**

UTICAJ DIJALIZNE MEMBRANE OBLOŽENE VITAMINOM E NA OKSIDACIONI STRES U TOKU POJEDINAČNE SEANSE ON-LINE HEMODIJAFILTRACIJE

Authors Svetlana Antić*, Nevena Draginić†, Dejan Pilčević*, Vladimir Živković‡, Ivan Srejšević‡, Nevena Jeremić†, Dejan Petrović§,||, Vladimir Jakovljević‡,¶ *Vojnosanitetski pregled* (2019); Online First September, 2019.

UDC:

DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP190730097A>

When the final article is assigned to volumes/issues of the Journal, the Article in Press version will be removed and the final version appear in the associated published volumes/issues of the Journal. The date the article was made available online first will be carried over.

**THE INFLUENCE OF VITAMIN E COATED DIALYSIS MEMBRANE ON
OXIDATIVE STRESS DURING THE SINGLE SESSION OF ON-LINE
HEMODIAFILTRATION**

**UTICAJ DIJALIZNE MEMBRANE OBLOŽENE VITAMINOM E NA
OKSIDACIONI STRES U TOKU POJEDINAČNE SEANSE ON-LINE
HEMODIJAFILTRACIJE**

**Svetlana Antić*, Nevena Draginić†, Dejan Pilčević*, Vladimir Živković‡, Ivan
Srejšović‡, Nevena Jeremić†, Dejan Petrović§||, Vladimir Jakovljević‡¶**

*Clinic for Nephrology, Military Medical Academy Belgrade, Belgrade, Serbia

†Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,
Kragujevac, Serbia

‡Department of Physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,
Kragujevac, Serbia

§Department of Internal medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,
Kragujevac, Serbia

||Center for Nephrology and Dialysis, Clinic for Urology and Nephrology, KC Kragujevac,
Kragujevac, Serbia

¶Department of Human Pathology, 1st Moscow State Medical University IM Sechenov,
Moscow, Russia

Correspondence to:

Svetlana Antić

Clinic for Nephrology, Military Medical Academy Belgrade, Belgrade, Serbia

Abstract

Background / Aim. Oxidative stress is an important risk factor for the development of cardiovascular atherosclerotic diseases in the population of patients treated with regular hemodialysis. Bioincompatibility of the dialysis membrane and increased concentration of endotoxin in the hemodialysis solution are two main factors that can stimulate oxidative stress. The paper was intended to examine the effect of a vitamin E-coated membrane on oxidative stress during a single session of on-line hemodiafiltration. **Methods.** Twenty-four patients undergoing hemodiafiltration with vitamin-E coated polysulfone dialysis membrane (Leocceed 21H) were examined, followed by a polysulfone dialysis membrane treatment without vitamin E (FX800). Following parameters of oxidative stress were measured: superoxide anion radical (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS), nitric oxide (NO_2^-), catalase (CAT), superoxide dizmutase (SOD), and reduced glutathione activity (GSH). Statistical analysis included Kolmogorov-Smirnov test, Student-T test and Wilcoxon test. **Results.** On-line hemodiafiltration with

high-flux polysulfone vitamin-E coated membrane led to significant reduction of TBARS concentration and SOD activity, while the on-line hemodiafiltration session with a high-flux polysulfone membrane that is not vitamin E-coated induced the significant increase in H_2O_2 concentration in the serum and decrease in SOD activity. No statistical significance among the other parameters of oxidative stress study was noticed. **Conclusion.** A single session of on-line hemodiafiltration with vitamin-E coated polysulfone membrane significantly affects oxidative stress. After a single session of on-line hemodiafiltration with a vitamin E-coated membrane, the concentration of tiobarbituric acid reactive substances (TBARS) has significantly decreased. The decreased activity of superoxide dismutase could be a consequence of increased loss of microelements during the on-line hemodiafiltration session with the "high-flux" polysulfone membrane. Patient selection, continuous on-line hemodiafiltration with vitamin E-coated polysulfone membrane over a 3-6 month period and increased antioxidant protection capacity could possibly reduce the risk of cardiovascular morbidity and mortality.

Key words:

hemodiafiltration, dialysis membrane, oxidative stress.

Apstrakt

Uvod / Cilj. Oksidacioni stres je značajan faktor rizika za razvoj kardiovaskularnih aterosklerotskih bolesti u populaciji bolesnika koji se leče redovnom hemodijalizom. Bioinkompatibilnost dijalizne membrane i povećana koncentracija endotoksina u rastvoru za hemodijalizu su dva glavna faktora koja mogu da podstaknu oksidacioni stres. Rad je imao za cilj da ispita uticaj membrane obložene vitaminom E na oksidacioni stres u toku pojedinačne seanse on-line hemodijafiltracije. **Metode.** Ispitano je 24 bolesnika koji se leče on-line hemodijafiltracijom sa polisulfonskom dijaliznom membranom obloženom vitaminom E (Leoced 21H), a zatim i polisulfonskom dijaliznom membranom neobloženom vitaminom E (FX800). Glavni parametri oksidacionog stresa su: superoksidni anjon, vodonik peroksid, reaktivne supstancije vezane za tiobarbituričnu kiselinu, azotni oksid, katalaza, superoksid dizmutaza i aktivnost redukovanog glutationa. Za statističku analizu korišćeni su: Kolmogorov-Smirnov test, Student-ov T test za vezane uzorke i

Wilcoxon-ov test. **Rezultati.** On-line hemodijafiltracije sa "high-flux" polisulfonskom membranom obloženom vitaminom E statistički značajno smanjuje koncentracija reaktivnih supstancija vezanih za tiobarbituričnu kiselinu (TBARS) i aktivnost superoksid dizmutaze (SOD). Nakon seanse on-line hemodijafiltracije sa "high-flux" polisulfonskom membranom koja nije obložena vitaminom E statistički značajno se povećava koncentracija vodonik peroksida u serumu, dok se aktivnost SOD značajno smanjuje. Između ostalih ispitivanih parametara oksidacionog stresa nije utvrđena statistička značajnost. **Zaključak.** Pojedinačna seansa on-line hemodijafiltracije sa polisulfonskom membranom obloženom vitaminom E statistički značajno utiče na oksidacioni stres. Koncentracija TBARS u serumu je statistički značajno manja posle pojedinačne sesije on-line hemodijafiltracije sa membranom obloženom vitaminom E. Smanjena aktivnost superoksid dizmutaze posledica je pojačanog gubitka mikroelemenata u toku seanse on-line hemodijafiltracije sa "high-flux" polisulfonskom membranom. Izbor bolesnika, on-line hemodijafiltracija sa polisulfonskom membranom obloženom vitaminom E kontinuirano u vremenskom periodu od 3-6 meseci i povećanje kapaciteta antioksidacione zaštite mogu smanjiti rizik od kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta.

Ključne reči:

hemodijafiltracija, dijalizna membrana, oksidacioni stress.

Introduction

Oxidative stress represents a significant risk factor for the development of cardiovascular diseases in the population of patients treated with regular hemodialysis [1]. In these patients, oxidative stress happens as a consequence of increased effect of prooxidative factors and reduced activity of antioxidant protection systems (non-enzyme and enzyme systems). The prooxidation factors include: age, diabetes mellitus, uremic background, chronic inflammatory status, bioincompatible dialysis membrane and presence of endotoxins in a hemodialysis solution. On the other hand, decreased activity of antioxidant non-enzyme mechanisms happens as a consequence of the lack of vitamin C and vitamin E, while decreased activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (Gpx), is due to the lack of cofactors [increased

selenium (Se) and zinc (Zn) loss through the dialysis membrane during hemodialysis] and reduced activity of glutathione system [2, 3].

Hemodialysis is itself a trigger for the oxidative stress occurrence. The main pathophysiological mechanisms of the increased formation of reactive oxygen species (ROS) during the hemodialysis session are the bioincompatibility of the dialysis membrane, presence of endotoxins in the hemodialysis solution and increased loss of cofactor oligoelements that are necessary for the activity of antioxidant enzymes [2-6].

Dialysis membranes play a central role in the hemodialysis process (hemodialysis). They can be natural and synthetic. Natural membranes include cellulose derivatives with water permeability coefficient - $K_{uf} < 10 \text{ ml/h} \times \text{mmHg}$ ("low-flux" membrane), low clearance of moderate molecular weight uremic toxins and a lower biocompatibility degree compared to synthetic membranes. Synthetic membranes are biocompatible membranes that have a high water permeability coefficient - $K_{uf} > 20 \text{ ml/h} \times \text{mmHg}$ ("high-flux" membranes) and high clearance of medium molecular weight uremic toxins [3-6]. The evaluation of the dialysis membrane efficacy is based on the coefficient of mass transfer (KoA), which can be calculated by multiplying the coefficient of transmission (Ko) and the surface of the membrane (A). Highly effective dialysis membranes are those that have $KoA > 600-700$ [3-6]. Highly effective ($KoA > 600-700$) and highly permeable water membranes with ultrafiltration coefficient of $K_{uf} \geq 50 \text{ mL/h} \times \text{mmHg}$ are used for on-line hemodiafiltration [3-6].

During the hemodialysis session, there is a direct activation of the polymorphonuclear leukocytes due to direct contact of the blood and the surface of the dialysis membrane, which is the result of myeloperoxidase activity which increases the formation of free oxygen radicals. Measurement of serum myeloperoxidase concentrations released from polymorphonuclears during a hemodialysis session indicates the severity of oxidative stress induced by different bioincompatibility degree of dialysis membranes [7].

During a single 4-hour session of hemodialysis, the patient's organism is exposed to about 120 liters of dialysis solution. Therefore, a high microbiological quality of the dialysis solution (ultra-pure dialysis solution) is required [8, 9]. According to the European Best Practice Guidelines/European Renal Best Practice, ANSI/AAMI RD52 (American National Standards Institute/Association for the Advancement of Medical Instrumentation RD 52) and ANSI/AAMI/ ISO 11663 for the Advancement of Medical Instrumentation ISO 11663,

the ultra-pure dialysis solution is defined as a solution in which the number of bacterial colonies is < 0.1 CFU/mL and the endotoxin concentration is $E < 0.03$ EU/mL. This solution is used for high-flux hemodialysis (HFHD) and hemodiafiltration (HDF), while for low-flux hemodialysis (LFHD), according to current recommendations, a solution with endotoxin concentration ≤ 0.50 EU/mL (≤ 0.25 EU/mL) and the number of colonies ≤ 100 CFU/ml (≤ 50 CFU/mL) [8, 9]. Endotoxin and other bacterial products can pass from a dialysis solution through a dialysis membrane to the patient's blood via backdiffusion/backfiltration processes and activate the mononuclear and polymorphonuclear cells to boost the formation and release of free oxygen and pro-cationic cytokine radicals [interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor ($TNF\alpha$)], all of that results in the development of oxidative stress, microinflammatory and accelerated atherosclerosis [8, 9].

In patients treated with regular hemodialysis, the activity of enzymatic and non-enzymatic antioxidant systems is reduced. Reduced concentration of trace elements, such as Se, Cu and Zn lowers the activity of antioxidant enzymes (SOD, Gpx). Lowered concentration of trace elements was reduced is probably a result of insufficient intake, but also increased loss during high-flux haemodialysis/hemodiafiltration [10]. Also, because of the lack of vitamin C and vitamin E, the capacity of non-enzymatic antioxidative protection systems has been reduced [10].

The present investigation was intended to examine the effect of a vitamin E-coated membrane on oxidative stress during a single session of on-line hemodiafiltration.

Methods

The study included 24 patients treated with on-line hemodiafiltration at the Center for Nephrology and Dialysis of the Clinical Center Kragujevac. The research was conducted with respect to the Helsinki Declaration on Medical Research, the approval of the Ethics Committee of the Clinical Center Kragujevac and the consent of the patients.

Patients regularly treated with on-line hemodiafiltration three times a week for 4 hours (12h per week) over a period of more than three months with a convective volume of 17 liters per session, on machines with controlled ultrafiltration type Fresenius 5008S, Gambro AKA200US and Gambro Artis, with the blood flow strength - $Q_b = 250$ mL/min and the dialysis flow strength- $Q_d = 500$ mL/min were examined. A standard ultra-pure solution for

on-line hemodiafiltration (endotoxin concentration - E < 0.03 EU/mL) was used. For on-line hemodiafiltration, the high-flux dialysis membrane was coated with vitamin E-Leoceed 21H (polysulfonic membrane of effective area 2.1 m², KoA = 1351 mL/min, high-flux - Kuf = 88 mL/h x mmHg, sterilized gamma rays, Asachi Kasei Medical Europe, Germany) and a high-flux dialysis membrane that is not coated with vitamin E - FX800 (polysulphonic membrane of effective area 2.0 m², KoA = 1365 mL/min, high-flux - Kuf = 62 mL/h x mmHg, sterilized by steam, Fresenius Medical Care, Germany). Exclusion criteria were: patients with proven active bleeding, active systemic inflammation or infection, with uncontrolled malignancies, as well as patients treated with immunosuppressive and antioxidant drugs.

In order to evaluate the influence of the dialysis membrane coated with vitamin E during an individual session of on-line hemodiafiltration on oxidative stress, several parameters were followed: anemia (hemoglobin, hematocrit, erythrocyte indexes), iron status in the patient's organism (iron and ferritin serum concentration, iron saturation of transferrin), microinflammation (C-reactive protein), nutritional status (prealbumin, transferrin), secondary hyperparathyroidism (iPTH, vitamin D), oxidative stress (superoxide anion (O₂⁻), hydrogen peroxide (H₂O₂), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), nitric oxide in the form of nitrites (NO₂⁻), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), reduced glutathione activity (GSH)), carotid artery intima media thickness, blood flow through the vascular hemodialysis approach (Q_{avf}) and the dialysis adequacy parameter (spKt/V).

Blood samples for laboratory analyzes were taken prior to initiation and after completion of a single on-line hemodiafiltration, before subcutaneous administration of heparin and before intravenous administration of iron and vitamin B complex at the end of the on-line hemodiafiltration session. Blood samples were from the same group of patients before and at the end of an individual hemodiafiltration session with a "high-flux" polysulfone membrane of type Leoceed 21H and before and after type FX800 treatment. Routine laboratory analyzes were done using standard laboratory tests and calculated as an average value of three measurements over three consecutive months.

The serum ferritin concentration was determined by the turbidimetric method, on the Beckman Coulter AU680 apparatus. In patients treated with regular hemodialysis, the normal serum ferritin concentration is 100-500 ng/mL.

The serum CRP concentration was determined by the turbidimetric method on the Olympus AU680 and calculated as the average value of two measurements over two consecutive months. The normal serum CRP concentration is ≤ 5 mg/L. Microinflammation is defined as the concentration of CRP in the serum of 5 mg/L.

The concentration of vitamin D in the serum was determined by electrochemiluminescence, on the Cobas e 411. The normal vitamin D concentration in the serum is 20-40 ng/mL. In patients treated with regular hemodialysis, the normal vitamin D concentration is ≥ 30 ng/mL (30-80 ng/mL). A severe deficit is defined as the concentration of vitamin D < 10 ng/mL, vitamin D deficiency exists if the concentration is 10-20 ng/mL, and the insufficiency is defined as the concentration of vitamin D in the serum of 20-30 ng/mL.

The concentration of intact parathormone in the serum was determined by the immunodiathymetric method (IRMA), on the gamma counter WALLAC WIZARD 1470. The normal concentration of intact parathormone in the serum is 11.8-64.5 pg/mL. In patients with hemodialysis the upper normal limit is 300 pg/mL.

The principle of determining the concentration of superoxide anion (O_2^-) in blood plasma samples uses the O_2 reaction with nitro tetrazolium blue (Nitro Blue Tetrazolium - NBT) to nitroformase blue. The measurement takes place at a wavelength $\lambda = 550$ nm.

The method for determining the concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2) is based on the oxidation of phenol red by the hydrogen peroxide reaction, which catalyses Horse Radish Peroxidase (HRPO). The final result of this reaction is the formation of a compound with a maximum absorption $\lambda_{max} = 610$ nm.

The determination of the lipid peroxidation index was carried out indirectly through products of the lipid peroxidation reaction with thiobarbituric acid (Thiobarbituric Acid Reactive Substances - TBARS). The principle of this method is based on the determination of lipid peroxide levels based on the reaction of one of them, malonildialdehyde (MDA) with thiobarbutyric acid (TBA). The measurement takes place at a wavelength $\lambda = 530$ nm.

Determination of the concentration of nitrogen monoxide (NO_2^-) was carried out on the basis of the amount of released nitrites. The principle of this method involves the use of a Griess reagent, which builds a diazo complex with nitrites, which gives the purple color. Measurement takes place at a wavelength $\lambda = 550$ nm.

An adrenaline method was used to determine the activity of SOD. The principle of this method, which normally belongs to the group of the "negative" type, is to monitor the

reduction in the self-oxidation rate of adrenaline in the alkaline environment, which is dependent on $O_2^{\cdot -}$. Given that $O_2^{\cdot -}$ removed by the present SOD, the adrenaline autoxidation reaction is inhibited. The system monitors the rate of adrenaline autoxidation change through the change in absorbance at 480 nm, which is inversely proportional to SOD activity.

The Beutler method was used to determine the catalase activity. The principle is the spectrophotometric monitoring of the rate of decomposition of hydrogen peroxide in the presence of catalase at a wavelength of 230 nm, in which hydrogen peroxide absorbs light. For the determination of reduced glutathione (GSH) activity, the Beutler spectrophotometric method was used. The principle of the method is based on the oxidation of glutathione GSH by 5,5-dithio-bis-6,2-nitrobenzoic acid (DTNB).

The hemodialysis adequacy was assessed on the basis of the single-pool Kt/Vsp index calculated according to Daugirdas second-generation formula: $Kt/V_{sp} = -\ln(C_2/C_1 - 0.008 \times T) + (4 - 3.5 \times C_2/C_1) \times UF/W$ (mmol/L), T - hemodialysis duration (h), UF - interdialysis yield (L), W - body weight after the hemodialysis (kg). According to K/DOQI guidelines, hemodialysis is adequate if $Kt/V_{sp} \geq 1.2$.

Urea reduction rate - URR index is calculated using the following formula: $URR = (1-R) \times 100\%$, where: R represents the ratio of urea concentration in the serum after and before the hemodialysis treatment. Hemodialysis is adequate if the URR index = 65-70%.

Blood flow through the vascular approach - Qavf was determined by the Color Doppler ultrasound scan, on the Logic P5 apparatus, using a 7.5MHz probe, wherein the blood flow is calculated from the formula: $Q_{avf} = r^2 \pi / 4 \times V_{mean} \times 60$ (mL/min), r - radius of vascular access, and V_{mean} - mean blood flow velocity through vascular approach. The blood flow is calculated as the mean of three measurements, 2-4 cm on the vein vascular approach, proximal to the anastomosis site. Blood flow through a vascular approach that provides adequate hemodialysis is 500-1000 mL/min.

The thickness of carotid arterial intimal media (IMT) was determined by the Color Doppler ultrasonic examination, on the Logic P5 apparatus, using a 7.5MHz probe, as the average value of three individual measurements on the right and left carotid arteries. Measurements were performed 1-2 cm below the bifurcation of carotid arteries by the same ultrasonography. The normal thickness of the intima media is defined as a value of less than 0.9 mm.

Tests used for the statistical analyses of the obtained data were following: the Kolmogorov-Smirnov test, Student T test and the Wilcoxon test were used. Significance threshold was probability of 0.05 and 0.01.

Results

In the Center for Nephrology and Dialysis of the KC Kragujevac, a cross section study was conducted, which included patients who are being treated with regular on-line hemodiafiltration over a period of more than three months. 24 patients (19 men, 5 women) were examined, mean age 60.92 ± 8.20 years, average dialysis lengths were 9.53 ± 5.45 years and average spKtV dialysis index was 1.20 ± 0.18 . General data on patients are shown in Table 1.

Anemia treatment that was used included short-acting and long-acting erythropoietin, i.v. administration of iron, i.v. preparation of vitamin B and per os folic acid. The average monthly dose for short-acting erythropoietin was 18000.00 ± 12055.43 IU, long-acting erythropoietin 140.00 ± 36.33 μg , the average monthly intravenous iron dose was 256.25 ± 131.50 mg, the average monthly dose of vitamin B₁₂ 2916.67 ± 1592.56 μg , and the average monthly folic acid dose was 181.25 ± 62.23 mg. Secondary hyperparathyroidism of the examined patients was treated with calcium-containing phosphate linkers, active metabolites of vitamin D and paricalcitol. The average monthly dose of rocalcitol was 3.08 ± 5.10 μg , and i.v. paracalcitol 2.50 ± 12.25 μg .

The average values of anemia parameters, iron status, microinflammation, nutritional status, secondary hyperparathyroidism and ultrasound examination of carotid arteries are shown in Table 2.

In order to evaluate the influence of dialysis membrane type on oxidative stress during a single session of on-line hemodiafiltration, the following parameters were examined: superoxide anion radical (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), nitric oxide in the form of nitrites (NO_2^-), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and reduced glutathione activity (GSH), Table 3.

Patients treated with hemodiafiltration have shown a significantly ($p < 0.05$) lower concentration of TBARS and significant ($p < 0.01$) lower SOD activity after the on-line session hemodiafiltration with vitamin E-coated membrane (Leoced 21H), Table 3. When we treated the same patients with single session of the on-line hemodiafiltration with a

membrane without vitamin E (FX800), it was found that H_2O_2 values were significantly higher, while the SOD activity was significantly lower after the treatment ($p < 0.01$) than before the onset hemodiafiltration, Table 3. There was no significant difference between the rest of oxidative stress parameters: CAT, GSH, O_2^- , NO_2^- ($p > 0.05$) before and after the session of on-line hemodiafiltration with a vitamin E-coated membrane (Leoceed 21H), as well as with non-coated membranes one vitamin E (FX800), Table 3 below.

Discussion

Cardiovascular diseases have remained the leading cause of death in patients with a final stage of chronic kidney disease treated with regular dialysis. Oxidation stress is considered to be a non-traditional risk factor for the development of cardiovascular disease in this population of patients [11, 12]. It occurs as a disbalance between formation of free oxygen radicals and activity of antioxidant protection systems. In the population of patients treated with hemodialysis, four types of oxidative stress can be distinguished: standard oxidation stress, chlorinated stress, nitrosative stress and carbonyl stress. Antioxidant protection against oxidative stress includes enzymatic (superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase) and non-enzymatic systems of protection which include hydrophilic vitamin C and lipophilic vitamin E [11-13]. The main clinical consequences of oxidative stress in patients with a terminal stage of chronic kidney disease treated with regular hemodialysis are: accelerated atherosclerosis, erythropoietin resistance (anemia) and amyloidosis caused by β_2 -microglobulin [11-13].

Biocompatibility degree of the dialysis membrane significantly affects oxidative stress in patients with a terminal stage of chronic kidney disease treated with hemodialysis. The results of the conducted studies that compared the influence of two different dialysis membranes on oxidative stress indicate that the hemodialysis session with cuprophane membrane significantly increases the serum malondialdehyde concentration relative to the dialysate session with the polysulfone membrane [14]. After a hemodialysis session with a polysulfone and cuprophane membrane, the activity of antioxidant enzymes increases, but this increase is significant only for catalase in patients dialysed with polysulphonic membranes [14]. However, by comparing the effect of the hemodialysis session using the hemophane and polysulfone membrane, it has been found that the polysulfone membrane significantly increases the concentration of malondialdehyde in the serum and statis

significantly reduces selenium concentration and glutathione peroxidase activity relative to the hemophane dialysis membrane [15]. The hemodialysis session with the "high-flux" polysulfone membrane significantly lowers the formation of free oxygen radicals during hemodialysis compared with the "low-flux" polysulfone membrane [16]. The hemodialysis session with the "high-flux" polysulfone membrane provides better control of the neutrophil function compared to the "low-flux" polysulfone membrane [17].

On-line hemodiafiltration, a biocompatible highly permeable dialysis membrane and an ultrapure solution for hemodialysis could ameliorate oxidative stress and slow the development of atherosclerosis [17, 18]. During a single session of on-line hemodiafiltration, with membranes that have a large surface and high water permeability ($K_{uf} > 50 \text{ mL/h} \times \text{mmHg}$), there is an increased loss of trace oligoelements (selenium, zinc, copper), which are significant cofactor of enzymatic antioxidant enzymes (SOD). Significantly lower concentration of oxidative stress parameters is achieved on-line by hemodiafiltration with a vitamin E coated membrane in continuity over a 3-6 months period relative to standard hemodialysis with a low-flux membrane without vitamin E. The results of clinical trials suggest that healing with on-line hemodiafiltration, with "high-flux" membranes over a period of 3-6 months, significantly reduces inflammation, oxidative stress and resistance to erythropoietin activity, compared to hemodialysis with "low-flux" membranes [17, 18]. Hemodialysis membranes (vitamin E-coated hemodialysis) have also shown the reduction of lipid peroxidation parameters values in the serum, such as: malondialdehyde (MDA), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and oxidized LDL cholesterol (oxLDL) [19-24]. Some studies highlighted that these membranes also reduce the concentration of oxidative nucleic acid parameters such as 8-OHdG (8-hydroxydeoxyguanosine) and the concentration of microinflammatory parameters (CRP, interleukin-6) [19-24]. Treatment with high-flux hemodialysis with polysulphonic membrane-bound vitamin E over a period of three to six months significantly reduces oxidative stress, microinflammation, erythropoietin resistance index, corrects the treatment of anemia, reduces the amount of erythropoietin and the thickness of intima-media of carotid arteries in population of patients treated with regular hemodialysis without affecting hemodialysis adequacy parameters (Kt/V index) [19-24]. The results of the conducted study show that after a single session of the on-line hemodiafiltration with "high-flux" polysulfone membrane coated with vitamin E (Leoced 21H), the

concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and the superoxide dismutase activity is significantly reduced. This can be explained by the effect of vitamin E, but also by the loss of microelement, the cofactor of the enzyme superoxide dismutase during the on-line hemodiafiltration session [25, 26]. The results of the tests carried out so far show that a significant amount of microelements (selenium, zinc, copper) is lost during the on-line hemodiafiltration and hemodialysis with the "high-flux" polysulfone membrane, which results in a decrease in the activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase and glutathione peroxidase [27-30]. Normal serum zinc concentration is 70-110 µg/dL, in erythrocytes 40-44 µg/g Hb, and normal activity of superoxide dismutase in erythrocytes is 1.102-1.601 IU/g Hb. In patients treated with regular dialysis, zinc is administered at a dose of 100 mg/day for 8 weeks. The results of the study show that the zinc applied in this dose significantly increases the activity of superoxide dismutase in erythrocytes, while the serum malondialdehyde concentration significantly decreases [31, 32]. In addition to the oligoelements, during the dialysis session, hydrosoluble vitamins that exhibit an antioxidant effect (vitamin C) are lost. Vitamin C clearance during the hemodialysis session is 30-50%, and during the high-flux hemodialysis and hemodynamic filtration over 50%. Due to reduced antioxidant capacity and reduced glutathione concentration during the high-flux polysulphonic membranes hemodiafiltration coated with vitamin E, oligoelements, vitamin C and vitamin E should be used to prevent this events. Vitamin C should be administered at a dose of 300 mg i.v. after each individual hemodialysis session for 8-12 weeks (with monitoring of serum oxalate concentration), while vitamin E is administered per os at a dose of 400-800 IU/day for 12-16 weeks for secondary prevention of cardiovascular events, and strong antioxidant effect is achieved at a dose of 1000 mg/day per os for 8 weeks (alpha tocopherol: 1.0 mg = 1.5 IU) [28-30].

Conclusion

A single session of on-line hemodiafiltration with a "high-flux" large-surface polysulfone vitamin E coated membrane ($A \geq 2.0 \text{ m}^2$) significantly affected parameters of oxidative stress relative to the individual session of the on-line hemodiafiltration with the "high-flux" polysulfone a membrane surface $\geq 2.0 \text{ m}^2$, which is not coated with vitamin E. After a single session of on-line hemodiafiltration with a vitamin E-coated membrane, the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) has significantly

decreased, while the activity of superoxide dismutase has decreased with both dialysis membranes, as a pole of the increased loss of trace elements, which are the cofactors of enzymatic antioxidative system components (superoxide dismutase). On-line hemodiafiltration with "high-flux" vitamine E coated polysulfone membrane should be applied in the 3-6 months period, with an appropriate assessment of the antioxidant protection capacity during treatment with this dialysis modality. In order to achieve the optimal efficiency of the patient treatment, individualization of hemodiafiltration perscription is needed.

Acknowledgments

Authors would like to express their deepest gratitude to the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for the Grant N°175014 and also to the Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for their Junior Grant N°02/19 from which the funds were used as one of the sources to financially support this paper.

REFERENCES

1. Cozzolino M, Mangano M, Stucchi A, Ciceri P, Conte F, Galassi A. Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2018; 33(1): 28-34.
2. Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 2001; 14(3): 793-9.
3. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, Dounousi E, Mertens PR. Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxidative Med Cell Long* 2017; 2017: 3081856. Doi:10.1155/2017/3081856.
4. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Zarogiannis S, Eleftheriadis T, Mertens PR. Oxidative stress in hemodialysis: Causative mechanisms, clinical implications, and possible therapeutic interventions. *Semin Dial* 2019; 32(1): 58-71.

5. Antić S, Draginić N, Nikolić T, Jeremić N, Petrović D. Oxidative stress in hemodialysis patients: pathophysiological mechanisms, clinical consequences and basic principles of treatment. *Ser J Exp Clin Res* 2019; DOI: 10.2478/sjecr-2019-0008.
6. Ronco C, Clark W. Hemodialysis membranes. *Nat Rev Nephrol* 2018; 14(6): 394-410.
7. Wu CC, Chen JS, Wu WM, Liao TN, Chu P, Lin SH, et al. Myeloperoxidase serves as a marker of oxidative stress during single hemodialysis session using two different biocompatible dialysis membranes. *Nephrol Dial Transplant* 2005, 20(6): 1134-9.
8. Ward RA. Ultrapure Dialysate. *Semin Dial* 2004; 17(6): 489-97.
9. Glorieux G, Neiryck N, Veys N, Vanholder R. Dialysis water and fluid purity: more than endotoxin. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(11): 4010-21.
10. Aziz MA, Majeed GH, Diab KS, Al-Tamimi RJ. The association of oxidant-antioxidant status in patients with chronic renal failure. *Ren Fail* 2016; 38(1): 20-6.
11. Ling XC, Kuo KL. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Ren Replacement Ther* 2018; 4: 53.
12. Krata N, Zagozdzon R, Foroniewicz B, Mucha K. Oxidative Stress in Kidney Disease: The Cause or the Consequence? *Arch Immunol Ther Exp* 2018; 66(3): 211-20.
13. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Bozikas A, Eleftheriadis T, Dounousi E. Antioxidant Supplementation in Renal Replacement Therapy Patients: Is There Evidence? *Oxidative Med Cell Long* 2019; 2019: 9109473. Doi: 10.1155(2019)9109473.
14. Varan HI, Dursun B, Dursun E, Ozben T, Ozben G. Acute effects of hmodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: Comparison of two dialysis membranes. *Int J Nephrol Renovasc Dis* 2010; 3: 39-45.
15. Yavuz O, Bicik Z, Cinar Y, Guney Y, Guler S. The effect of different dialysis membranes on oxidative stress and selenium status. *Clin Chim Acta* 2004; 346(2): 153-60.

16. Ward RA, Ouseph R, McLeish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int* 2003; 63(1): 353-9.
17. Den Hoedt CH, Bots ML, Grooteman MPC, Der Weerd NC, Mazairac AHA, Penne EL, et al. Online hemodiafiltration reduces systemic inflammation compared to low-flux hemodialysis. *Kidney Int* 2014; 86(2): 423-32.
18. Panichi V, Scatena A, Rosati A, Giusti R, Ferro G, Malagnino E, et al. High-volume online hemodiafiltration improves erythropoiesis-stimulating agents (ESA) resistance in comparison with low-flux bicarbonate dialysis: results of the REDERT study. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(4): 682-9.
19. Tarng DC, Huang TP, Liu TY, Chen HW, Sung YJ, Wei YH. Effect of vitamin E-bonded membrane on the 8-hydroxy 2,-deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 58: 790-9.
20. Panichi V, Rosati A, Paoletti S, Ferrandello P, Migliori M, Beati S, Bernabini G, et al. A vitamin E-coated polysulphone membrane reduces serum levels of inflammatory markers and resistance to erythropoietin-stimulating agents in hemodialysis patients: results of a randomized cross-over multicenter trial. *Blood Purif* 2011; 32(1): 7-14.
21. Yang SK, Xiao L, Xu B, Xu XX, You F, Liu FY, Sun L. Effects of vitamin E-coated dialyzer on oxidative stress and inflammation status in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *Ren Fail* 2014; 36(5): 722-31.
22. Yamadera S, Nakamura Y, Inagaki M, Ohsawa I, Gotoh H, Goto Y, Sato N, et al. Vitamin E-Coated Dialyzer Inhibits Oxidative Stress. *Blood Purif* 2017; 44(4): 288-93.
23. D'Arrigo G, Baggetta R, Tripepi G, Galli F, Bolignano D. Effects of vitamin E-Coated versus Conventional Membranes in Chronic Hemodialysis Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Blood Purif* 2017; 43(1-3): 101-22.
24. Locatelli F, Andrulli S, Viganò SM, Concetti M, Urbini S, Giacchino F, et al. Evaluation of the Impact of a New Synthetic Vitamin E-Bonded Membrane on the Hypo-Responsiveness to the Erythropoietin Therapy in Hemodialysis Patients: A Multicenter Study. *Blood Purif* 2017; 43(4): 338-45.

25. Akiyama S, Inagaki M, Tsuji M, Gotoh H, Gotoh T, Washio K, et al. Comparison of effect of vitamin E-coated dialyzer and oral vitamin E on hemodialysis-induced Cu/Zn-superoxide dismutase. *Am J Nephrol* 2005; 25(5): 500-6.
26. Nakamura Y, Inagaki M, Kenmotsu S, Yamadera S, Ohsawa I, Gotoh H, et al. Significance of Cu/Zn-Superoxide Dismutase Levels in Hemodialysis Patients: A Mini Review. *M Res Inflamm* 2017; 6(2): 9-13.
27. Torregosa E, Jaras H, Sastre J, Pons R, Calvo HG, Gordo CC, et al. Analysis of oxidative stress in patients on-line hemodiafiltration. *Nefrologia* 2007; 27(5): 612-8.
28. Singer RF. Vitamin C supplementation in kidney failure: effect on uraemic symptoms. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(2): 614-20.
29. Coombes JS, Fassett RG. Antioxidant therapy in hemodialysis patients: a systematic review. *Kidney Int* 2012; 81(3): 233-46.
30. Kosmadakis G, DaCosta Correia E, Odette Carceles O, Somda F, Aguilera D. Vitamins in dialysis: who, when and how much? *Ren Fail* 2014; 36(4): 638-50.
31. Wang LJ, Wang MQ, Hu R, Yang Y, Huang YS, Xian SX, et al. Effect of Zinc Supplementation on Maintenance Hemodialysis Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of 15 Randomized Controlled Trials. *Biomed Res Int* 2017; doi: 10.1155/2017/1024769.
32. Mazani M, Argani H, Rashtchizadeh N, Ghorbanhaghjo A, Hamdi A, Estiar MA, Nezami N. Effect of zinc supplementation on antioxidant status and lipid peroxidation in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2013; 23(3): 180-4.

Table 1. General data on patients

General data		Statistical parameters
		X _{sr} ± SD
Number (N)		24
Gender (m/f, %)		19/5 (79.17%/20.83%)
Age (years)		60.92 ± 8.20
Length of hemodialysis treatment (years)		9.53 ± 5.45
Body mass index - BMI (kg/m ²)		25.63 ± 3.53
Systolic arterial blood pressure - STA (mmHg)		131.67 ± 13.73
Diastolic arterial blood pressure - DTA (mmHg)		77.50 ± 6.76
Mean arterial blood pressure - MBP (mmHg)		95.56 ± 8.49
Body weight - W (kg)		74.21 ± 12.69
Interdialytic weight gain - IDWG (kg)		2.33 ± 0.92
Interdialytic weight gain- IDWG (%)		3.22 ± 1.32
Ultrafiltration rate - UFR (mL/kg/h)		8.04 ± 3.30
Ultrafiltration - UF (mL/h)		583.33 ± 229.21
Residual diuresis - RD (mL/24h)		425.00 ± 591.98
Arteriovenous fistula flow - Q _{avf} (mL/min)		967.08 ± 415.62
Index of hemodialysis adequacy - Kt/V _{sp}		1.20 ± 0.18
Primary kidney disease	Glomerulonephritis chronica	3 (12.5%)
	Nephropathia hypertensiva	10 (41.66%)
	Nephropathia diabetica	1 (4.16%)
	Nephropathia obstructiva	1 (4.16%)
	Nephropathia chronica	4 (16.67%)
	Renes polycystici	5 (20.83%)
Comorbidity		
Hypertension		22 (91.66%)
Hypotension		1 (4.17%)
Diabetes mellitus		1 (4.17%)

Table 2. Basic investigation parameters

MEASURED PARAMETERS	Statistical parameters
	Xsr ± SD
Hemoglobine - Hb (g/L)	105.88 ± 14.56
Hematocrit - Hct (%)	32.09 ± 4.47
Mean corpuscular volume - MCV (fL)	93.74 ± 4.86
Mean corpuscular hemoglobin concentration - MCHC (g/L)	329.50 ± 6.53
Vitamine B ₁₂ serume concentration - VitB ₁₂ (pg/mL)	962.33 ± 503.24
Folic acid serum concentration - FOL (ng/mL)	20.42 ± 13.16
Iron serume concentration - Fe ²⁺ (µmol/L)	9.62 ± 4.04
Transferrin Saturation - TSAT (%)	24.46 ± 9.77
Feritine serume concentration - F (ng/mL)	591.96 ± 318.31
C-reactive proteine serume concentration - CRP (mg/L)	6.08 ± 6.74
Albumine serum concentration - Alb (g/L)	37.96 ± 3.24
Prealbumine serume concentration - Palb (g/L)	0.29 ± 0.08
Transferine serume concentration - Trsf (g/L)	1.57 ± 0.28
Vitamina D serum concentration - VitD (ng/mL)	20.16 ± 9.69
Intact parathormon serum concentration - iPTH (pg/mL)	228.92 ± 287.42
Average intima-media thickness RCA - IMT (mm)	1.21 ± 0.24
Average intima-media thickness LCA - IMT (mm)	1.19 ± 0.26
Average intima-media thickness CA - IMT (mm)	1.20 ± 0.23

Table 3. The influence of the dialysis membrane type on oxidative stress during a single session of on-line hemodiafiltration

Parameters	On-line hemodiafiltration membrane					
	Leocceed 21H		P	FX800		P
	before HDF	after HDF		before HDF	after HDF	
O ₂ ⁻	3.45 ± 3.51	1.87 ± 2.06	0.078	1.96 ± 1.23	1.83 ± 1.14	0.548
H ₂ O ₂	4.82 ± 1.99	4.74 ± 1.56	0.878	7.14 ± 1.72	7.95 ± 1.54	0.003
TBARS	1.20 ± 0.26	1.07 ± 0.10	0.031	0.88 ± 0.15	0.90 ± 0.24	0.567
NO	3.65 ± 1.24	3.34 ± 0.80	0.223	7.79 ± 2.29	8.09 ± 2.00	0.174
SOD	37.99 ± 27.12	19.33 ± 11.46	0.003	27.13 ± 13.72	18.66 ± 11.38	0.010
CAT	2.38 ± 1.51	1.86 ± 1.28	0.107	1.79 ± 1.23	2.15 ± 1.52	0.626
GSH	110615.52 ± 27561.68	106438.65 ± 32204,63	0.992	90988.86 ± 14909.96	92846.14 ± 12470.16	0.364

O₂⁻ - superoxide anion radicale (nmol/mL), H₂O₂ - hydrogen peroxide (nmol/mL), TBARS - thiobarbituric acid reactive substances (µmol/L), NO: nitric oxide in the form of nitrites (nmol/mL), SOD - superoxide dismutase (U/gHb x 10³), CAT - catalase (U/gHb x 10³), GSH - reduced glutathione activity (U/gHb x 10³)

Fondacija/ institucija – Ministarstvo za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije

Naziv projekta – Analiza strukture troškova i uticaj na zdravstveni budzet Republike Srbije epidemiološki najmasovnijih i / ili najskupljih oboljenja i procena odnosa troškova / efikasnost/ korisnost medicinskih intervencija

Oznaka projekta - Grant N°175014

Fondacija/ institucija – Fakultet medicinskih nauka Kragujevac

Naziv projekta – Procena oksidativnog stresa kod bolesnika koji se leče metodama za zamenu funkcije bubrega

Oznaka projekta - Junior Grant N°02/19

Received on July 30, 2019.

Revised on August 21, 2019.

Accepted August 21, 2019.

Online First September, 2019.

PAPER ACCEPTED