

Učinci nadomjesnog liječenja intravenskim pripravcima željeza na mineralni i antioksidacijski status u bolesnika liječenih hemodijalizom

Mujagić, Renat

Doctoral thesis / Disertacija

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:647343>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)





SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

RENAT MUJAGIĆ

**UČINCI NADOMJESNOG LIJEČENJA
INTRAVENSKIM PRIPRAVCIMA ŽELJEZA NA
MINERALNI I ANTIOKSIDACIJSKI STATUS U
BOLESNIKA LIJEČENIH HEMODIJALIZOM**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2012.



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

RENAT MUJAGIĆ

**UČINCI NADOMJESNOG LIJEČENJA
INTRAVENSKIM PRIPRAVCIMA ŽELJEZA NA
MINERALNI I ANTIOKSIDACIJSKI STATUS U
BOLESNIKA LIJEČENIH HEMODIJALIZOM**

DOKTORSKI RAD

Mentorice:

Doc. dr. sc. Nada Vrkić, viša znanstvena suradnica
Dr. sc. Jasna Jurasović, znanstvena savjetnica

Zagreb, 2012.



UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

Renat Mujagić

**EFFECTS OF INTRAVENOUS IRON
SUPPLEMENTATION TREATMENT ON MINERAL
AND ANTIOXIDATIVE STATUS IN HEMODIALYSED
PATIENTS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2012

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana medicinska biokemija.

Rad je izrađen na Zavodu za Medicinsku biokemiju i hematologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i manjim dijelom na Kliničkom zavodu za kemiju, odnosno na Institutu za klinička medicinska istraživanja u KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb, Hrvatska, u sklopu projekta “Hemoreološki poremećaji u kroničnim bolestima” Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta (broj projekta: 134-0061245-0205).

Hvala,

majci i ocu na svestranoj i nesebičnoj podršci te bezuvjetnoj roditeljskoj ljubavi na životnom putu odrastanja, školovanja, stručnog usavršavanja i znanstvenog napredovanja

voditeljicama u izradi doktorskog rada doc. dr. sc. Nadi Vrkić i dr. sc. Jasni Jurasović na bezgraničnom razumijevanju, iskrenoj ljudskoj dobroti, uloženom trudu i vremenu te izuzetnom doprinosu u izradi ovog rada

voditeljici Odjela za laboratorijsku hematologiju u KBC „Sestre milosrdnice“ dr. sc. Biserki Getaldić-Švarc na suradnji, na izuzetnoj srdačnosti i iskrenom razumijevanju te velikoj pomoći i podršci u izradi hematoloških pretraga

voditelju Odjela za hemodijalizu KBC „Sestre milosrdnice“ prim. dr. med. Siniši Šeferu na suradnji, osmišljavanju i poticanju provedbe ovog istraživanja te na svesrdnom zalaganju u organizaciji te prikupljanju uzoraka i pribavljanju klinički mjerodavnih podataka o ispitanicima

rukovoditeljici Djelatnosti za laboratorijsku dijagnostiku u Općoj bolnici Pula dr. sc. Loreni Honović na velikoj podršci i razumijevanju tijekom izrade i pisanja doktorskog rada

ravnatelju Opće bolnica Pula prim. mr. Lems Jerin, dr. med. na podršci i potpori pri izradi ovoga rada

svim zaposlenicima u KBC „Sestre milosrdnice“ u Zavodu za kliničku kemiju te Odjelu za hemodijalizu; zaposlenicima u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam; zaposlenicima na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju; zaposlenicima u Općoj bolnici Pula u Djelatnosti za laboratorijsku dijagnostiku i Djelatnosti za unutarnje bolesti, ponajviše hvala kolegicama dr. sc. Alici Pizent, Slavici Crnokrak, mag. biochem. i dr. med. Gordani Kuzmanović na izuzetnoj susretljivosti i pomoći u izradi ovog rad

članovima Povjerenstva prof. dr. Lada Rumora i dr. sc. Mariji Poljak-Blaži na nesebičnom zalaganju te iscrpnim smjernicama što je u konačnici rezultiralo u kakvoći i jasnoći sadržaja rada

Hvala svima onima koji se iskreno raduju skupa sa mnom jer su višegodišnji rad te nesebično zalaganje i međusobna suradnja stručnjaka i znanstvenika različitih specijalnosti uspješno utkani u ovaj doktorski rad koji donosi pregršt novih znanstvenih spoznaja. Nadam se da će rezultati ovoga rada biti trajni poticaj i podstrek u daljnjem stručnom i znanstvenom radu na ovoj istraživačkoj problematici.

SAŽETAK

UVOD I CILJ: Cilj ovog istraživanja je bio ispitati povezanost između upale, oksidacijskog stresa, antioksidacijskog i mineralnog statusa u bolesnika liječenih hemodijalizom s obzirom na načine liječenja, tj. u odnosu na primijenjene antianemike (Ferrlecit, Eprex i Recormon) i dijalizne membrane (celuloza-triacetate i polisulfonske). Nadalje, cilj je bio procijeniti kratkoročne učinke intravenske primjene Ferrlecita.

Kliničko značenje sveukupnih međudnosa između antioksidacijskog sustava obrane, statusa elemenata u tragovima, upale i oksidacijskog stresa su razmotreni u svrhu pravovaljanog odabira postupaka liječenja i hemodijalize.

ISPITANICI I METODE: Stotinu i tri bolesnika liječenih hemodijalizom s potpisanom pisanom privolom (68 muškaraca i 35 žene) su uključeni u kliničko istraživanje. Pedeset i tri bolesnika su liječeni intravenskom primjenom Ferrlecita i eritropoetina, trideset i sedam samo eritropoetinom, a trinaest bolesnika nije primalo antianemike unatrag tri mjeseca.

Biokemijski i hematološki pokazatelji su određivani standardnim harmoniziranim metodama prema smjernicama Hrvatske komore medicinskih biokemičara ili drugim primjerenim metodama.

REZULTATI: Srednjaci koncentracije selena i cinka te aktivnosti pseudokolinesteraze i paraoksonaze su niži od donje granice referentnog intervala u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom. U bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom je smanjena aktivnost bakar, cink-superoksid-dismutaze u eritrocitima i povećana koncentracija feritina u serumu u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima. U bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom nađena je obrnuto razmjerna povezanost specifične feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina s koncentracijom ne-transferinskog željeza i proteinskih karbonila, odnosno aktivnost serumske superoksid-dismutaze je pozitivno povezana s koncentracijom trovalentnog ne-transferinskog željeza i koncentracijom proteinskih karbonila.

Neposredno nakon primjene infuzije Ferrlecita opažen je porast koncentracije ne-transferinskog željeza i ne-ceruloplazminskog bakra u serumu s popratnim porastom omjera između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza.

ZAKLJUČAK: Poremećaj metabolizma esencijalnih elemenata u tragovima (nedostatak selena i cinka) s pridruženim poremećajem antioksidacijskog sustava u eritrocitima (bakar, cink-superoksid-dismutaza) i/ili antioksidacijskih enzima u plazmi (paraoksonaza) te pridruženi porast oksidacijskog stresa mogu pridonijeti razvoju anemije, upale i pothranjenosti što rezultira aterosklerozom i drugim krvožilnim komplikacijama u bolesnika liječenih hemodijalizom. Porast aktivnosti serumske superoksid-dismutaze uz pridruženi porast trovalentnog ne-transferinskog željeza predstavlja prilagodbeni odgovor na povećani oksidacijski stres. Uklanjanje superoksidnog radikala posredstvom superoksid-dismutaze u prisutnosti trovalentnog ne-transferinskog željeza sprječava Fentonovu reakciju čime može sprječati napredovanje oksidacijskog stresa.

Ključne riječi: hemodijaliza, antioksidacijski enzimi, elementi u tragovima, upala, oksidacijski stres, željezo, bakar, anemija, eritropoetin, ateroskleroza

SUMMARY

BACKGROUND AND AIM: The aim of this study was to investigate the relationship between inflammation, oxidative stress, antioxidative and trace elements status in regard to treatment modalities, e. g. anti-anemia therapy (Ferrlecit, Eprex and Recormon) or dialysis membrane (cellulose-triacetate and polysulphone membrane) in hemodialysed patients. In addition, the study aimed to estimate the short-term effects of intravenous Ferrlecit infusion. The clinical relevance of overall interrelationships between the antioxidative defense system, trace elements status, inflammation and oxidative stress is considered for optimizing various therapies and hemodialysis modalities.

PARTICIPANTS AND METHODS: A hundred and three hemodialysed patients with signed informed consent (sixty-eight males and thirty-five females) were included in this clinical trial. Fifty-three patients underwent intravenous therapy with Ferrlecit and erythropoietin, thirty-seven patients received erythropoietin only, and thirteen patients had no anti-anemia therapy over the past three months.

Biochemical and hematological parameters were determined by standard harmonized methods according to the guidelines of the Croatian Chamber of Medical Biochemists or other appropriate analytical methods.

RESULTS: Mean selenium and zinc plasma concentration and serum pseudocholinesterase and paraoxonase activity were below the reference range in 103 hemodialysed patients.

Patients treated with Ferrlecit and erythropoietin had a lower copper, zinc-superoxide dismutase activity in erythrocytes and higher ferritin serum concentration when compared with untreated patients. In patients treated with Ferrlecit and erythropoietin inverse correlation of specific ceruloplasmin ferroxidase activity with non-transferrin iron and protein carbonyls level were found. On the contrary, serum superoxide dismutase activity was positively associated with ferric non-transferrin iron and protein carbonyls level.

An increase of non-transferrin iron and non-ceruloplasmin copper serum concentration accompanied with a concomitant rise of ratio between ferrous and ferric non-transferrin iron were observed immediately after Ferrlecit infusion.

CONCLUSION: Essential trace elements metabolism disbalance (selenium and zinc deficiency) with a concomitant disbalances of the antioxidant system in erythrocytes (copper, zinc-superoxide dismutase) and/or antioxidant enzymes in plasma (paraoxonase) in addition to occurrence of oxidative stress may contribute to anemia, inflammation and undernutrition that result in atherosclerosis and other vascular complication in hemodialysed patients. An increase of serum superoxide dismutase activity accompanied with an increase of ferric non-transferrin iron represents adaptive response to enhanced oxidative stress. A removal of superoxide radical by superoxide dismutase in the presence of ferric non-transferrin iron may prevent oxidative stress progression by ultimately suppressing Fenton reaction.

Key words: hemodialyse, antioxidative enzyme, trace elements, inflammation, oxidative stress, iron, copper, anemia, erythropoietin, atherosclerosis

Popis kratica

<i>kratica</i>	<i>izraz na engleskom jeziku</i>	<i>značenje na hrvatskom jeziku</i>
<i>α_1mG</i>	<i>alpha1-microglobulin</i>	alfa1-mikroglobulin
<i>β_2mG</i>	<i>beta2-microglobulin</i>	beta2-mikroglobulin
<i>1,25(OH)₂D</i>	<i>calcitriol</i>	kalcitriol
<i>AAS</i>	<i>atomic absorption spectrophotometry</i>	atomska apsorpcijska spektrofotometrija
<i>AGE</i>	<i>advanced glycation end products</i>	uznapredovali glikacijski završni produkti
<i>ALE</i>	<i>advanced lipoxidation end products</i>	uznapredovali završni produkti lipoksidacije
<i>ANOVA</i>	<i>analysis of variance</i>	analiza varijance
<i>AOPP</i>	<i>advanced oxidation protein products</i>	uznapredovali oksidacijski proteinski produkti
<i>AP-1</i>	<i>activating protein-1</i>	aktivacijski protein-1
<i>AsK</i>	<i>ascorbate</i>	askorbat
<i>AsK*</i>	<i>ascorbyl radical</i>	askorbilni radikal
<i>ATP</i>	<i>adenosine triphosphate</i>	adenozin-trifosfat
<i>ATPaza</i>	<i>adenosine triphosphatase (ATPase)</i>	adenozin-trifosfataza
<i>BMI</i>	<i>body mass index</i>	indeks tjelesne mase
<i>Ca\timesPO₄</i>	<i>calcium-phosphate product</i>	umnožak koncentracija kalcija i fosfata
<i>CP</i>	<i>ceruloplasmin</i>	ceruloplazmin
<i>CPa</i>	<i>ceruloplasmin activity</i>	aktivnost ceruloplazmina
<i>CPm</i>	<i>ceruloplasmin mass</i>	masena koncentracija ceruloplazmina
<i>CRP</i>	<i>C-reactive protein</i>	C-reaktivni protein
<i>CTM</i>	<i>cellulose triacetate membrane (CTA)</i>	celuloza-triacetatna membrana
<i>Ctrl</i>	<i>copper transporter 1</i>	transportni protein za bakar 1
<i>Dcyt B</i>	<i>duodenal cytochrome B</i>	duodenalni citokrom B
<i>DGRI</i>	<i>lower reference limit</i>	donja granica referentnog intervala
<i>DMT1</i>	<i>divalent metal transporter-1</i>	transportni protein 1 za dvovalentne katione
<i>DNK</i>	<i>deoxyribonucleic acid (DNA)</i>	deoksiribonukleinska kiselina
<i>DNPH</i>	<i>2,4-dinitrophenylhydrazine</i>	2,4-dinitrofenilhidrazin
<i>EC-SOD</i>	<i>extracellular superoxide dismutase</i>	izvanstanična superoksid-dismutaza
<i>eGFR-MDRD</i>	<i>estimated glomerular filtration rate - modification of diet in renal diseases</i>	procijenjena brzina glomerulske filtracije prema MDRD
<i>ERA-EBPG</i>	<i>European Renal Association - European Best Practice Guidelines</i>	Europska udruga za bubrežne bolesti – stručne europske smjernice
<i>ESOD</i>	<i>erythrocyte superoxide dismutase</i>	eritrocitna SOD

FPN1	<i>ferroportin-1</i>	feroportin-1
G6PD	<i>glucose-6-phosphate dehydrogenase</i>	glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza
GFR	<i>glomerular filtration rate</i>	brzina glomerulske filtracije
GGRI	<i>upper reference limit</i>	gornja granica referentnog intervala
GPx	<i>glutathione peroxidase</i>	glutation-peroksidaza
GRd	<i>glutathione reductase</i>	glutation-reduktaza
GSH	<i>reduced glutathione</i>	reducirani glutation
GSSG	<i>oxidized glutathione</i>	oksidirani glutation
Hb	<i>hemoglobin</i>	hemoglobin
HCPI	<i>heme carrier protein 1</i>	transportni protein 1 za hem
Hct	<i>hematocrit</i>	hematokrit
HD	<i>hemodialysis</i>	hemodijaliza
HDL	<i>high-density lipoproteins</i>	lipoproteini visoke gustoće
HEPH	<i>hephaestin</i>	hefestin
HIF1	<i>hypoxia-inducible factor-1</i>	čimbenik 1 potaknut hipoksijom
HIF1α	<i>hypoxia inducible factor-1 alpha subunit</i>	alfa podjedinica čimbenika 1 potaknutog hipoksijom
HIF1β	<i>hypoxia inducible factor-1 beta subunit</i>	beta podjedinica čimbenika 1 potaknutog hipoksijom
HJV	<i>hemojuvelin</i>	hemojuvelin
HNE	<i>hidroksinonenal</i>	hidroksinonenal
ICP-MS	<i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>	masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom
IDL	<i>intermediate-density lipoproteins</i>	lipoproteini srednje gustoće
IFN-γ	<i>interferon-gamma</i>	interferon-gama
IL-1	<i>interleukin-1</i>	interleukin 1
IL-1α	<i>interleukin-1 alpha</i>	interleukin 1 alfa
IL-10	<i>interleukin-10</i>	interleukin 10
IL-2	<i>interleukin-2</i>	interleukin 2
IL-6	<i>interleukin-6</i>	interleukin 6
INT	<i>2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyltetrazolium chloride</i>	2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazolijev klorid
IRE	<i>iron regulatory elements</i>	regulacijski element za željezo
IRPI(2)	<i>iron regulatory protein-1(2)</i>	regulacijski protein 1(2) za željezo
K₂EDTA	<i>dipotassium ethylenediaminetetraacetate salt</i>	kalijev etilendiamintetraacetat
KAT	<i>catalase (CAT)</i>	katalaza
KEs	<i>cholinesterase (ChE)</i>	pseudokolinesteraza

Kt/V	<i>fractional clearance of body water of urea</i>	kinetika ureje
LBM	<i>lean body mass</i>	procijenjena nemasna tjelesna masa
LCAT	<i>lecithin cholesterol acyltransferase</i>	lecitin-kolesterol-aciltransferaza
LDL	<i>low-density lipoproteins</i>	lipoproteini niske gustoće
MCP-1	<i>monocyte chemotactic protein-1</i>	monocitni kemotaksijski protein 1
MDA	<i>malondialdehyde</i>	malondialdehid
MIA	<i>malnutrition-inflammation-atherosclerosis syndrome</i>	sindrom pothranjenosti-upale-ateroskleroze
MPO	<i>myeloperoxidase</i>	mijeloperoksidaza
mRNK	<i>messenger ribonucleic acid</i>	glasnička ribonukleinska kiselina
NAD(H)	<i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADP(H)	<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>	nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfat
NADPH- oksidaza	<i>NADPH oxidase</i>	NADPH-oksidaza
NF-κB	<i>nuclear factor kappa B</i>	nuklearni čimbenik kappa B
NKF-KDOQI	<i>National Kidney Foundation - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative</i>	Nacionalna zaklada za promicanje kvalitete života bubrežnih bolesnika
NO-sintaze	<i>nitric oxid synthase</i>	sintaza dušikova oksida
NTFe	<i>non-transferrin-bound iron (NTBI)</i>	ne-transferinsko željezo
NTFe(II)	<i>non- transferrin-bound ferrous iron</i>	divalentno ne-transferinsko željezo
NTFe(III)	<i>non-transferrin-bound ferric iron</i>	trovalentno ne-transferinsko željezo
oLDL	<i>oxidized LDL (oxLDL)</i>	oksidirani LDL
p53	<i>protein 53</i>	protein 53
PAF	<i>platelet-activating factor</i>	čimbenika aktivacije trombocita
PK	<i>protein carbonyls</i>	proteinski karbonili
PoFe	<i>iron deficit</i>	nedostatak željeza
PONI	<i>paraoxonase 1</i>	Paraoksonaza 1
PSM	<i>polysulfone membranes</i>	polisulfonska dijalizna membrana
PT	<i>body surface area</i>	površina tijela
PTH	<i>parathormone</i>	parathormon
RAGE	<i>receptor for advanced glycosylation end-products</i>	receptor za uznapredovale završne produkte glikozilacije
RDM	<i>reactive nitrogen metabolites</i>	reaktivni dušikovi metaboliti
REE	<i>resting energy expenditure</i>	bazalne metaboličke energijske potrebe
REE/kg	<i>resting energy expenditure per kg lean body mass</i>	bazalne metaboličke energijske potrebe po kilogramu nemasne tjelesne mase

RI	<i>reference interval</i>	referentni interval
RKM	<i>reactive oxygen metabolites</i>	reaktivni kisikovi metaboliti
RNK	<i>ribonucleic acid</i>	ribonukleinska kiselina
sICAM-1	<i>soluble intercellular adhesion molecule-1</i>	topljiva eunutarstanična adhezijska molekula 1
SOD	<i>superoxide dismutase</i>	superoksid-dismutaza
SSOD	<i>serum superoxide dismutase</i>	serumska superoksid-dismutaza
SSOD_{CN}	<i>cyanide-resistant superoxide dismutase</i>	superoksid-dismutaza rezistentna na inhibiciju cijanidom
SSOD_{UK}	<i>total serum superoxide dismutase</i>	ukupna serumska superoksid-dismutaza
TBW	<i>total body water</i>	procijenjena masa ukupne vode u tijelu
TF	<i>transferrin</i>	transferin
TfR1(2)	<i>transferrin receptor 1(2)</i>	transferinski receptor 1(2)
TG/HDL	<i>TG/HDL ratio</i>	omjer između triglicerida i HDL-kolesterola
TGF-β	<i>transforming growth factor beta</i>	transformirajući čimbenik rasta beta
TLR4	<i>toll-like receptor 4</i>	TL receptor 4
TM	<i>body weight</i>	tjelesna masa
TNF-α	<i>tumor necrosis factor-alpha</i>	čimbenik tumorske nekroze alfa
TSAT	<i>transferrin saturation</i>	zasićenje transferina željezom
URR	<i>urea reduction ratio</i>	postotak sniženja ureje
VLDL	<i>very-low-density lipoproteins</i>	lipoproteini vrlo niske gustoće
VOM	<i>visceral organ mass</i>	procijenjena masa visceralnih organa
VOM/kg	<i>visceral organ mass per kg body weight</i>	masa visceralnih organa po kilogramu tjelesne mase
ZIP14	<i>zinc transporter protein 14</i>	transportni protein za cink 14

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Osnove fiziologije i anatomije bubrega	1
1.2. Bubrežne bolesti	4
1.3. Postupci nadomjesnog liječenja u završnom stadiju bubrežne bolesti	5
1.3.1. Hemodijaliza	5
1.3.2. Peritonejska dijaliza	7
1.4. Pokazatelji upale te lipidnog, nutritivnog i mineralnog statusa u bubrežnih bolesnika	7
1.5. Elementi u tragovima u bubrežnih bolesnika	9
1.6. Vitaminski status u bolesnika s bubrežnom bolešću	10
1.7. Uremijski toksini, stvaranje eritropoetina i anemija kronične bubrežne bolesti	11
1.8. Oksidacijski stres	14
1.8.1. Reaktivni kisikovi metaboliti	15
1.8.2. Reaktivni dušikovi metaboliti	15
1.8.3 Oksidacijski stres u bubrežnih bolesnika	16
1.8.4. Eritrociti i oksidacijski stres	17
1.9. Antioksidacijski sustav obrane	18
1.9.1. Stanični antioksidacijski sustav obrane	18
1.9.2. Antioksidansi i antioksidacijski enzimi u plazmi	21
1.10. Rizik od srčanožilnih bolesti i oksidacijski stres u bolesnika liječenih hemodijalizom	23
1.10.1. Ateroskleroza	23
1.10.2. Proaterogeni pokazatelji lipidnog statusa te poveznice između metabolizma lipida i željeza	25
1.10.3. Paradoksalna epidemiološka saznanja u procjeni rizika od srčanožilnih bolesti u bolesnika liječenih hemodijalizom	26
1.11. Uloga minerala u organizmu čovjeka	26
1.11.1. Makroelementi	27
1.11.2. Elementi u tragovima / ultratragovima – esencijalnost i toksičnost	28
1.12. Čvorišne točke između elemenata u tragovima i oksidacijskog stresa	39
2. OBRAZLOŽENJE TEME	42
3. ISPITANICI I METODE	44
3.1. Ispitanici	44
3.2. Prikupljanje, obrada i pohrana uzoraka	46

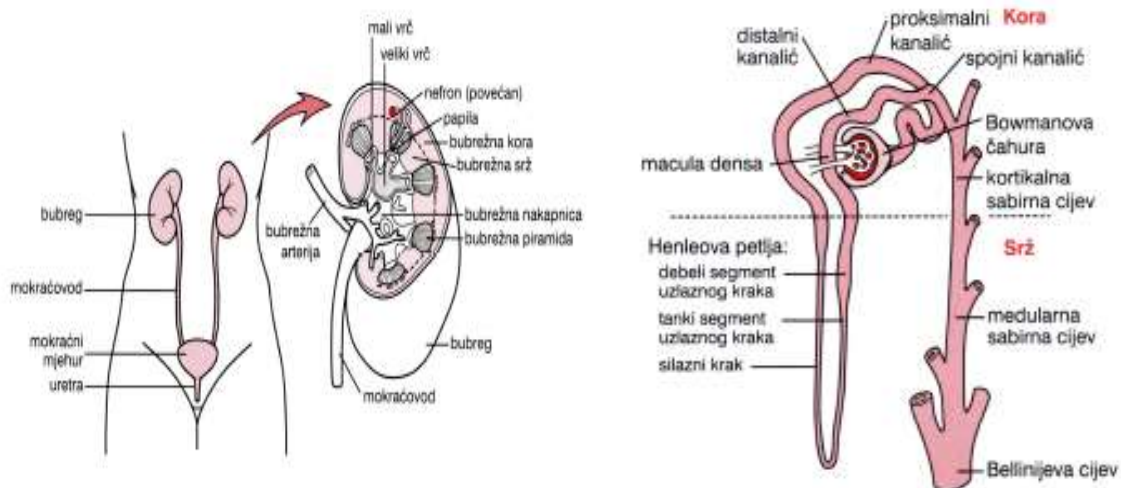
3.2.1. Odjeljivanje seruma i plazme	46
3.2.2. Priprava hemolizata eritrocita	46
3.3. Metode	47
3.3.1. Izračun antropometrijskih pokazatelja, procjena nedostatka željeza i kvantifikacija konzumacije alkoholnih pića	47
3.3.2. Određivanje hematoloških i biokemijskih pokazatelja	47
3.3.3. Određivanje pokazatelja oksidacijskog stresa, antioksidacijskog sustava obrane te pokazatelja statusa elemenata u tragovima	48
3.4. Statistička obrada podataka	53
4. REZULTATI	55
4.1. Opisni statistički pokazatelji za ispitivane parametre u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom	55
4.2. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika s obzirom na vrstu dijalizne membrane	64
4.3. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika s obzirom na primjenu antianemika (eritropoetina i Ferrlecita)	66
4.4. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika s obzirom na vrstu primijenjenog eritropoetina	68
4.5. Povezanost cinka s bakrom i kromom u bolesnika liječenih antianemicima (Ferrlecit i eritropoetin) i bolesnika koji nisu liječeni Ferrleцитom	71
4.6. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa prije i neposredno nakon primjene infuzije Ferrlecita	72
4.7. Povezanost antioksidacijskih enzima u eritrocitima s elementima u tragovima u bolesnika liječenih hemodijalizom	75
4.8. Povezanost mineralnog i antioksidacijskog statusa s neučinkovitošću antianemika u liječenju anemije	77
4.9. Povezanost oksidacijskog stresa, upale te lipidnog, antioksidacijskog i mineralnog statusa u bolesnika liječenih Ferrleцитom i eritropoetinom	79
5. RASPRAVA	82
6. ZAKLJUČCI	94
7. LITERATURA	96
8. PRILOG	113
9. ŽIVOTOPIS I POPIS OBJAVLJENIH RADOVA	118
TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA	120

1. UVOD

1.1. Osnove fiziologije i anatomije bubrega

Bubreg se sastoji od prosječno 600-800 tisuća nefrona. Ključna uloga bubrega je održavanje homeostaze u organizmu čovjeka. U građi bubrega razlučuju se dvije anatomske cjeline: bubrežna kora i srž. Nefron je osnovna anatomska i funkcionalna jedinica bubrega koja se sastoji od: glomerula, proksimalnog kanalića, silaznog i uzlaznog kraka Henleove petlje na koje se nadovezuje distalni kanalić, sabirni kanalić, odnosno sabirna cjevčica. Sabirne cjevčice se spajaju u veliku sabirnu cijev (Bellinijevu cijev) iz koje kroz bubrežne bradavice na vrhu piramida istječe stvorena mokraća u bubrežnu nakapnicu. Mokraća iz bubrežne nakapnice mokraćovodom ulazi u mokraćni mjehur otkuda se putem mokraćne cijevi izmokri 0,4-2 litre mokraće na dan [1-4].

Bubrežni glomeruli su građeni od kapilarne mreže koja oblaže Bowmanovu kapsulu. Stijenka glomerulske kapilare sastoji se od tri anatomska sloja: endotela, bazalne membrane i epitelnih stanica (podociti) koji oblažu unutrašnjost Bowmanove kapsule te osiguravaju selektivnu filtraciju sastojaka iz krvi (sl. 1-1).



Slika 1-1. Anatomska građa bubrega i mokraćnog sustava te građa nefrona. Prerađeno, preuzeto iz izvornika: Guyton AC, Hall JE, ur. Medicinska fiziologija [4].

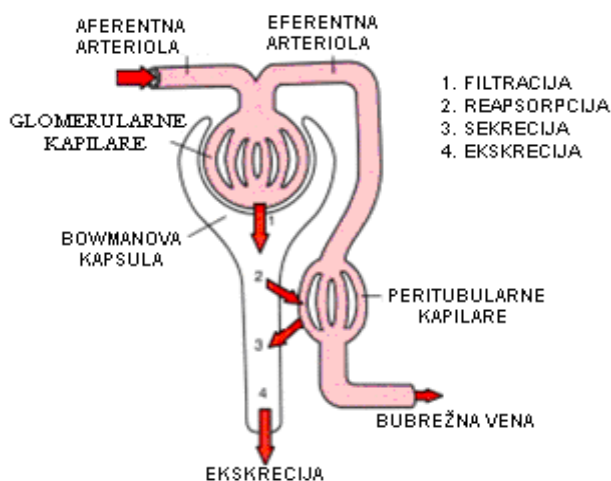
Krv u glomerul dopijeva aferentnom arteriolom koja se grana u splet glomerulskih kapilara koje se potom spajaju u eferentnu arteriolu. Krv iz eferentne arteriole omogućuje snabdijevanje bubrežnih tkiva kisikom i hranjivim tvarima te osigurava reapsorpciju tvari iz peritubulskih kapilara. Eferentne arteriole se nadovezuju na bubrežne venule te na bubrežnu

venu. U glomerulu se dnevno stvori oko 200 litara primarne mokraće koja sadrži neznatnu količinu sastojaka s molekulskom masom većom od 70 kDa.

Osnovna fiziološka funkcija bubrega je izlučivanje suvišnih metaboličkih sastojaka (neproteinskih dušikovih spojeva) i organizmu stranih tvari (lijekovi, otrovi i dr.) te održavanje homeostaze (regulacija tjelesnih tekućina, održavanje ravnoteže elektrolita i koncentracije vodikovih iona), odnosno bubrezi imaju sistemsku ulogu u sintezi djelatnih biomolekula (hormona i eritropoetina) te sintezi amonijaka [1,2]. Sastav izlučene mokraće, odnosno bubrežna funkcija, ovisi o tri čimbenika:

- glomerulskoj filtraciji tvari;
- reapsorpciji tvari iz bubrežnih kanalića;
- izlučivanju tvari iz bubrežnih kanalića (sl. 1-2).

Klinički mjerodavni pokazatelj u procjeni ekskretorne bubrežne funkcije jest **brzina glomerulske filtracije** (*Glomerular Filtration Rate-GFR*). U oštećenju bubrežne funkcije smanjuje se **GFR** što rezultira smanjenjem izlučivanja neproteinskih dušikovih spojeva (ureje, kreatinina i mokraćne kiseline). Biokemijske pretrage i **GFR** usmjeravaju kliničara u odabiru primjerenog načina liječenja bubrežnih bolesnika [1,2]. Izračun **procijenjene brzine glomerulske filtracije** (*estimated Glomerular Filtration Rate-Modification of Diet in Renal Diseases*) **eGFR-MDRD** je punovaljani klinički pokazatelj u procjeni bubrežne funkcije, odnosno u procjeni uznapredovalosti oštećenja bubrežne funkcije pa se rabi pri donošenju odluke o započinjanju dijalize kod značajnog smanjenja brzine glomerulske filtracije **eGFR** < 8 mL/min/1,73m² prema preporuci *European Renal Association (ERA)* [5,6].



$$\text{EKSKRECIJA} = \text{FILTRACIJA} + \text{SEKRECIJA} - \text{REAPSORPCIJA}$$

Slika 1-2. Bubrežni procesi koji određuju sastav mokraće. Prerađeno, preuzeto iz izvornika: Guyton AC, Hall JE, ur. Medicinska fiziologija [4].

Molekule proteina koje prođu kroz glomerulsku membranu se uglavnom reapsorbiraju u bubrežnim kanalićima, ali u bubrežnim i/ili drugim bolestima se izlučuju u mokraći (**proteinurija**; dnevna količina izlučenih proteina u mokraći > 150 mg/dU). Stupanj i vrsta proteinurije povezani su sa stadijem bubrežne bolesti [2]. Elektroforetskim tehnikama visoke razlučivosti moguće je razdvojiti proteine u mokraći na 26 frakcija. Albumin i uromukoid (Tamm-Horsfallov protein) su najzastupljeniji proteini u mokraći zdravih ljudi. U diferencijalnoj dijagnostici bubrežnih bolesti i određivanju vrste proteinurije moguće je rabiti različite izračunske pokazatelje:

- omjer koncentracije α_2 -makroglobulina i albumina u kliničkom razlučivanju bubrežne od poslijebubrežne hematurije;
- omjer koncentracije α_1 -mikroglobulina i albumina u kliničkom razlučivanju glomerulske i tubulske proteinurije;
- omjer zbroja koncentracija albumina, imunoglobulina G te α_1 -mikroglobulina i koncentracije ukupnih proteina u kliničkom razlučivanju bubrežne od predbubrežne proteinurije [1,2,7].

Brojni niskomolekulski proteini (β_2 -mikroglobulin, protein koji veže retinol, α_1 -mikroglobulin, cistatin C i dr.) se filtriraju u glomerulu, a reapsorbiraju se u proksimalnim bubrežnim kanalićima. Određivanje koncentracije cistatina C u serumu predstavlja pouzdan pokazatelj u procjeni ekskretorne bubrežne funkcije [1,2]. U bolesnika liječenih hemodijalizom β_2 -mikroglobulin u serumu (molekula srednje molekulske mase) je pouzdaniji pokazatelj učinkovitosti hemodijalize u usporedbi sa smanjenjem koncentracije ureje [8,9]. U bubrežnom zatajenju opaža se višestruki porast (do 60 puta) koncentracije β_2 -mikroglobulina u serumu sa značajnim udjelom deaminiranog β_2 -mikroglobulina (kiseli β_2 -mikroglobulin). Kiseli β_2 -mikroglobulin je podložniji oksidaciji i/ili glikaciji što rezultira povećanjem stvaranja uznapredovalih glikacijskih završnih produkata (**AGE**) koji se nakupljaju u amiloidozi. Nakupljanje amiloida u zglobovima može biti uzrok osteoartropatija u bubrežnih bolesnika. Upalni citokini: interleukin-1 (**IL-1**), interleukin-6 (**IL-6**) i čimbenik tumorske nekroze-alfa (**TNF- α**) potiču stvaranje β_2 -mikroglobulina. **AGE- β_2 -mikroglobulin** stvoren glikoksidacijom β_2 -mikroglobulina pogoduje stvaranju i odlaganju amiloida, potiče kemotaksijske učinke te stvaranje upalnih citokina u makrofagima, odnosno utječe na sintezu kolagena. Nadalje, primjena željezovog glukonata tijekom hemodijalize može prouzročiti promjene u strukturi β_2 -mikroglobulina (deaminacija β_2 -mikroglobulina, porast molekulske mase te povećanje udjela karbonilnih skupina u β_2 -mikroglobulinu) što rezultira smanjenjem

izlučivanja β_2 -mikroglobulina i porastom koncentracije β_2 -mikroglobulina u krvi bolesnika liječenih hemodijalizom i željezovim glukonatom [8,10-15].

1.2. Bubrežne bolesti

Očuvana anatomska građa i primjerena prokrvljenost bubrega osiguravaju primjerenu bubrežnu funkciju. Promjene u građi bubrega ili promjene prokrvljenosti bubrega su mogući uzroci poremećaja bubrežne funkcije. Nerijetko je poremećaj bubrežne funkcije uzrokovan nefunkcionalnošću nefrona u cijelosti, no katkad oštećenje može biti ograničeno samo na glomerule (glomerulopatije) ili samo na bubrežne kanaliće (tubulopatije).

Nefropatije se mogu razviti sekundarno kao posljedica šećerne bolesti (dijabetička nefropatija) te uslijed povišenog krvnog tlaka i imunskog vaskulitisa ili angiitisa. Čimbenici koji pridonose napredovanju bubrežne bolesti su: hipertenzija, albuminurija/proteinurija, hiperglikemija, pušenje, neprimjeren unos proteina i hiperlipidemija [1,2,6,16,17].

Tablica 1-1. Klasifikacija kronične bubrežne bolesti s obzirom na brzinu glomerulske filtracije. Prerađeno, preuzeto iz Schrier RW, ur. Diseases of the Kidney & Urinary Tract [16]

Stadij	Naziv stadija bubrežne bolesti	<i>GFR</i> (mL/min/1,73m ²)
1	Bubrežna disfunkcija uz urednu ili povećanu <i>GFR</i>	≥ 90
2	Bubrežna disfunkcija uz blago smanjenje <i>GFR</i>	60-89
3	Umjereno smanjenje <i>GFR</i>	30-59
4	Znatno smanjenje <i>GFR</i>	15-29
5	Završni stadij bubrežnog zatajenja (uremija)	< 15

Kronično bubrežno zatajenje je oštećenje ili smanjenje bubrežne funkcije u razdoblju duljem od tri mjeseca uz $GFR < 60$ mL/min/1,73m² (tab. 1-1). Neprimjereno liječenje mnogobrojnih bubrežnih bolesti rezultira pogoršanjem bubrežne funkcije koje može napredovati do **završnog stadija bubrežnog zatajenja** (uremijski sindrom) [2]. U završnom stadiju bubrežnog zatajenja razvija se uremija kao specifično stanje u kojemu se u krvi nakupljaju neproteinski dušikovi spojevi (ureja, kreatinin i mokraćna kiselina) uz pridruženi poremećaj brojnih biokemijskih pokazatelja: kiselinsko-bazičnog (metabolička acidoza), mineralnog (hiperfosfatemija, hiperkloremija, hiperkalijemija, hipermagnezemija, hipokalcijemija), lipidnog (hiperlipoproteinemija i hipertrigliceridemija) te hormonskog (hiperparatireodizam) statusa [1,2,6]. U bubrežnih bolesnika nakupljaju se potencijalno toksične tvari koje se inače izlučuju u mokraći (aluminij i uznapredovali završni glikosidacijski spojevi). Na glikozilirane proteine se mogu vezati kationi prijelaznih metala

(bakar i željezo) što pridonosi porastu oksidacijskog stresa [16,18]. Povećana razina oksidacijskog stresa u uremiji može pridonijeti razvoju ateroskleroze (srčanožilnih i/ili moždanožilnih bolesti) [6,19].

U Hrvatskoj, prema podacima iz 2000. godine, najučestaliji uzroci koji dovode do kroničnog bubrežnog zatajenja su: dijabetička nefropatija (28%), kronični pijelonefritis (17%), kronični glomerulonefritis (14%), ishemijska bubrežna bolest (9%), policistična bolest bubrega (8%), tubulointersticijski nefritis (8%), bolesti vezivnog tkiva (5%), endemska nefropatija (2%) te ostali uzroci (9%). Arterijska hipertenzija je značajan neovisni ili pridruženi sučimbenik u razvoju kroničnog bubrežnog oštećenja u više od 80% kroničnih bubrežnih bolesnika [6,20].

1.3. Postupci nadomjesnog liječenja u završnom stadiju bubrežne bolesti

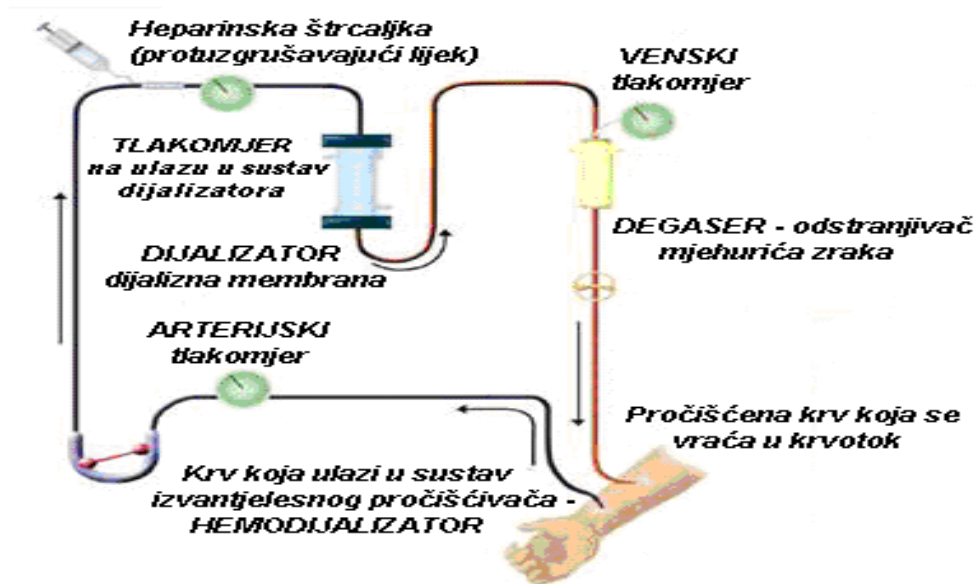
Osnovno načelo dijalize je selektivna difuzija, osmoza, odnosno konvekcija molekula iz krvi kroz polupropusnu membranu u dijaliznu otopinu i obrnuto. Dijaliza se temelji na razlici u brzini pasivne difuzije pojedinih sastavnica krvi i dijalizne otopine kroz polupropusnu membranu. Ako krv protječe izvan tijela kroz sustav polupropusnih membrana postupak se naziva **hemodijaliza**, a ako se izmjena tvari odvija preko potrbušnice postupak se naziva **peritonejska dijaliza**. Učinkovitost postupka dijalize može se procijeniti pomoću izračunskih pokazatelja: kinetika ureje (Kt/V) i postotak sniženja ureje (URR) [21-23].

1.3.1. Hemodijaliza

Hemodijaliza je postupak uklanjanja razgradnih produkata, elektrolita (kalij) i vode iz krvi uremičara, a istodobno se nadomještaju supstance koje manjkaju (bikarbonati). Voda se odstranjuje ultrafiltracijom s obzirom na razliku hidrostatskih tlakova između odjeljaka, a molekule/ioni male molekulske mase prolaze kroz polupropusnu dijaliznu membranu po načelu difuzije i konvekcije, dok istodobno dijalizna membrana onemogućuje prolazak većih makromolekula te krvnih stanica u dijaliznu otopinu (sl. 1-3).

Svežanj polupropusnih kapilara (aktivna površina 2 m^2) uronjen je u otopinu za dijalizu. Otopina za dijalizu protustrujnim protokom oplahuje kapilare što osigurava učinkovitiju izmjenu niskomolekulskih sastojaka između krvi (prosječna brzina protoka 300 mL/min ; unutar kapilare) i dijalizne otopine (prosječna brzina protoka 700 mL/min ; izvan kapilare). Otopina za dijalizu sastoji se od pomno odabranih sastavnica (bikarbonatna ili acetatna bazna otopina; kalij, natrij, glukoza, kalcij i magnezij). Tijekom hemodijalize odvija se izmjena

sastojaka između krvi i dijalizne otopine (120 L). Onečišćenja iz vode koja se rabi za pripremu dijalizne otopine može biti uzrok povećane izloženosti bolesnika raznim kontaminantima (aluminij, bakar, kloramin, fluorid i dr.) pa je iznimno važno stalno praćenje kvalitete i mogućeg onečišćenja vode za pripremu dijalizata.



Slika 1-3. Pojednostavljena shema ključnih sastavnica sustava za hemodijalizu. Preuzeto i prerađeno: National Institutes of health (2010) The Kidney Failure Glossary. Dostupno na: <http://kidney.niddk.nih.gov> [1. siječnja 2011].

Različite vrste **dijaliznih membrana** rabe se u sustavima za hemodijalizu, a učinkovitost hemodijalize ovisi o osobitostima membrane (promjer kapilare, aktivna površina izmjene, veličina i broj pora, kemijski sastav, biokompatibilnost) te drugih čimbenika koji se mogu ciljno podesiti pri izvedbi postupka hemodijalize (brzina protoka krvi i dijalizne otopine, sastav dijalizne otopine, vrijeme podvrgavanja hemodijalizi, tlakovi i dr.). S obzirom da krvne stanice tijekom postupka hemodijalize dolaze u izravan doticaj s dijaliznom membranom preporuča se rabiti biološki podudarne (biokompatibilne) vrste dijaliznih membrana kako bi se izbjegla neželjena aktivacija komplementa i/ili otpuštanje biološki djelatnih sastavnica (**IL-1**, **IL-6**, **TNF- α** , mijeloperoksidaza - **MPO** i dr.) iz aktiviranih krvnih stanica. Učinkovitost uklanjanja brojnih molekula (β_2 -mikroglobulin, **AGE**-produkti te inhibitori eritropoeze) dijalizom ovisi o veličini pora na dijaliznoj membrani. Na membranu i membranske pore vežu se molekule s negativnim nabojem (imunoglobulini, β_2 -mikroglobulin, **AGE** i dr.). Pore u membranama visokoprotočnih dijalizatora su veće pa omogućuju učinkovitije uklanjanje molekula s većim molekulskim masama (do 68 kDa).

U kliničkoj uporabi najčešće se rabe: polusintetske modificirane celulozne membrane (celuloza-acetat, celuloza-diacetat, celuloza-triacetat), celulozno-sintetske (tercijarne amino-skupine) te sintetske membrane (polisulfon, poliakrilonitril, polikarbonat, poliamid, polimetilmetakrilat). Uporaba polusintetskih i sintetskih membrana smanjuje stopu pobola i duljinu bolničkog liječenja u bolesnika liječenih hemodijalizom. Modificirana celulozna membrana sa supstituiranim hidroksilnim skupinama (celuloza-triacetat) pokazuje značajke bolje biokompatibilnosti što ima za posljedicu smanjenje aktivacije sustava komplementa pri uporabi celuloza-triacetatne membrane (*CTM*) u usporedbi s polisulfonskom membranom (*PSM*) [2,6,16,17,24-28].

1.3.2. Peritonejska dijaliza

Peritonejska dijaliza temelji se na izmjeni sastojaka između krvi i otopine za dijalizu koja se putem katetera unosi u peritonejsku šupljinu. Izvedba ovog postupka dijalize može se odvijati bez potpore dodatnog uređaja (dijalizat s otpadnim metaboličkim sastojcima se ispusti iz peritonejske šupljine nakon određenog vremena koje je potrebno da se postigne izmjena niskomolekulskih spojeva između dijalizata i krvi) ili uz potporu uređaja koji omogućuju stalnu izmjenu dijalizata tijekom provedbe postupka peritonejske dijalize [2].

1.4. Pokazatelji upale te lipidnog, nutritivnog i mineralnog statusa u bubrežnih bolesnika

Porast upalnih pokazatelja (C-reaktivni protein, fibrinogen, *MPO* i dr.) uz pridruženo smanjenje negativnih reaktanata akutne upalne faze (albumin i transferin) upućuju na prisutnost kronične upale u bolesnika liječenih hemodijalizom. Povišena koncentracija C-reaktivnog proteina i snižena koncentracija albumina su negativni pretkazatelji preživljenja u bolesnika liječenih hemodijalizom.

Pothranjenost predstavlja značajan problem u zdravstvenoj skrbi bolesnika liječenih hemodijalizom, a nerijetko je popraćena smanjenjem koncentracije albumina, ureje, kreatinina, kolesterola i kalija i/ili fosfata. Koncentracija prealbumina (<0,3 g/L) rabi se u procjeni rizika od smrtnog ishoda u bubrežnih bolesnika, ponajprije u upali (CRP>13 mg/L) kada albumin nije pouzdan pokazatelj nutritivnog statusa. U uhranjenijih bolesnika liječenih hemodijalizom nađena je veća koncentracija kolesterola, lipoproteina niske gustoće (*LDL*-kolesterola), homocisteina, ureje i kreatinina što se povezuje sa smanjenjem brojnih zdravstvenih rizika. Povišena koncentracija triglicerida u uremiji ponajprije je uzrokovana

poremećajem metabolizma lipoproteina s velikim udjelom triglicerida (lipoproteini srednje gustoće-**IDL** i lipoproteini vrlo niske gustoće-**VLDL**) zbog smanjenja katalitičke aktivnosti lipoprotein-lipaze. Povećana sinteza kolesterola i lipoproteina u jetri te smanjen izražaj **LDL**-receptora uzrokom su porasta koncentracije kolesterola. Primjena sevelamera (vezač fosfata) može pridonijeti smanjenju **LDL**-kolesterola i porastu lipoproteina visoke gustoće (**HDL-kolesterol**) u bubrežnih bolesnika [16,28-31].

Oksidacijski stres, uz upalu i pothranjenost, pridonosi poremećaju funkcije endotela krvnih žila što rezultira razvojem ateroskleroze i krvožilnih komplikacija u bolesnika liječenih hemodijalizom.

U bubrežnih bolesnika izračunavaju se brojni **antropometrijski pokazatelji** koji se rabe u procjeni energijskih potreba i nutritivnog statusa te procjeni rizika od razvoja komplikacija, odnosno radi primjerene prilagodbe postupka hemodijalize i liječenja u bolesnika liječenih hemodijalizom [6,16,29].

U kroničnih bubrežnih bolesnika često se pojavljuje **nedostatak kalcija (hipokalcijemija)** zbog nedostataka vitamina D i/ili razvoja rezistencije naspram vitaminu D što rezultira smanjenjem apsorpcije kalcija i smanjenjem učinkovitosti parathormona (**PTH**). Nadomjesno liječenje vitaminom D povećava apsorpciju kalcija iz probavnog sustava, smanjuje lučenje **PTH** te povoljno utječe na koštani metabolizam, odnosno može povoljno utjecati na produljenje preživljenja u bolesnika liječenih hemodijalizom (sl. 1-4).

Sindrom koštane aplazije/hipoplazije opisan je u bolesnika liječenih dijalizom. Sindrom se klinički očituje relativno sniženom koncentracijom **PTH**, smanjenim brojem osteoblasta uz posljedično usporenu koštanu pregradnju. Smatra se da razvoju sindroma koštane aplazije/hipoplazije mogu doprinijeti toksični učinci aluminija ili preopterećenje željezom.

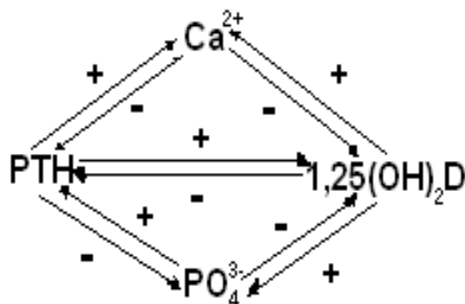
Nadalje, **osteodistrofija** u bubrežnih bolesnika je poremećaj pregradnje koštanog tkiva uslijed poremećaja metabolizma kalcija i fosfora. Osteodistrofija se očituje povećanom razgradnjom koštanog tkiva pa kosti postaju tanke i krhke što rezultira porastom rizika od koštanih prijeloma. Učestalost razvoja osteodistrofije u bubrežnih bolesnika iznosi do 90%.

Patogeneza bubrežne osteodistrofije započinje bubrežnom bolešću, odnosno narušavanjem homeostaze kalcija i fosfata. Uslijed smanjenja koncentracije kalcija zbog smanjenog izlučivanja fosfata bubrezima povećava se lučenje **PTH** (sekundarni hiperparatiroidizam) što rezultira povećanom razgradnjom kostiju i otpuštanjem kalcija. Drugi čimbenik koji doprinosi razvoju osteodistrofije je smanjeno stvaranje kalcitriola u bubrezima što doprinosi smanjenju apsorpcije kalcija iz probavnog sustava. Kalcitriol i **PTH** reguliraju homeostazu kalcija. Nedostatak kalcitriola izravno potiče stvaranje **PTH** na razini izražaja gena za **PTH**-a te može

pridonijeti smanjenju učinka *PTH* na koštani metabolizam (rezistencija na *PTH*). Dođe li do značajnog povećanja umnoška koncentracije kalcija i fosfata ($Ca \times PO_4$) stvaraju se kalcifikati u stijenkama krvnih žila. U bolesnika s umnoškom $Ca \times PO_4 > 4,4 \text{ mM}^2$ je nađena značajno veća koncentracija topljivih E-selektina i unutarstanične adhezijske molekule-1 (*sICAM-1*) što se povezuje s porastom rizika od srčanožilnih bolesti i smrtnog ishoda posebice kada je umnožak $Ca \times PO_4 > 6,4 \text{ mM}^2$.

U liječenju osteodistrofije u bubrežnih bolesnika rabe se:

- kalcijmimetici (oponašaju djelovanje kalcija) smanjuju lučenje *PTH*;
- nadomjestak kalcitriola;
- nadomjestak kalcija;
- prilagođavanje načina prehrane (smanjeni unos fosfora);
- primjena vezača fosfata (sevelamer);
- program vježbi koji doprinosi očvršćivanju koštanog tkiva [16,17,31-37].



Slika 1-4. Međudjelovanje između koncentracije ioniziranog kalcija (Ca^{2+}), fosfata (PO_4^{3-}), *PTH* i $1,25(OH)_2D$. Djelovanje mehanizama negativne ili pozitivne povratne sprege u metabolizmu kalcija i fosfata. Mehanizmi regulacije nisu vremenski niti jakosno usklađeni s obzirom na učinke i odgodu djelovanja pojedinih bioloških djelatnih sastavnica u poremećajima metabolizma kalcija i fosfata (*PTH* i $1,25(OH)_2D$). Preuzeto iz izvornika: Nephrol Dial Transplant 2000;15(Suppl.5):2-7 [33].

1.5. Elementi u tragovima u bubrežnih bolesnika

Poremećaj statusa elemenata u tragovima u bubrežnih bolesnika je višestimbenični poremećaj kojeg uvjetuju: bubrežno zatajenje, gubitak proteina, prehrana, pothranjenost, nadomjesni i drugi postupci liječenja, primjena lijekova, povećana izloženost ili gubitak pojedinih elemenata u tragovima tijekom postupka hemodijalize, povećana razina oksidacijskog stresa, pridružene bolesti i drugi čimbenici. U bubrežnih bolesnika (tab. 1-2) se

opaža nakupljanje pojedinih elemenata u tragovima (smanjeno izlučivanje mokraćom i/ili povećana izloženost), odnosno nedostatak određenih elemenata u tragovima (smanjeni unos i/ili povećano izlučivanje). U bolesnika liječenih hemodijalizom izgledno je nakupljanje određenih elemenata u tragovima zbog značajnog koncentracijskog gradijenta između plazme i dijalizata, odnosno uslijed vezanja elemenata u tragovima na plazmatske proteine i eritrocite [16,29,38-44].

Poremećaj prometa i metabolizma elemenata u tragovima u uremiji može doprinijeti razvoju zloćudnih bolesti, porastu rizika od srčanožilnih bolesti, razvoju anemije, pogoršanju bubrežnog oštećenja te razvoju koštanih bolesti. Povećana izloženost arsenu, aluminiju i vanadiju uz pridruženi nedostatak bakra mogu pridonijeti pogoršanju anemije u bolesnika liječenih hemodijalizom [45].

Porast omjera bakra i cinka, koncentracije magnezija te toksičnih metala (kadmij i olovo) u bolesnika liječenih hemodijalizom izravno je povezan s debljinom intime i medije karotidnih arterija (pokazateljem ateroskleroze) [40].

Tablica 1-2. U uremiji dolazi do promjene statusa elemenata u tragovima što se očituje promjenom koncentracije elemenata u tragovima u krvi (plazmi). Brojna istraživanja nerijetko iznose oprečne rezultate u procijeni statusa pojedinih elemenata u tragovima pa su u tablici prikazani najučestaliji pomaci pokazatelja elemenata u tragovima u uremiji [16,43,45-50]

Element u tragu	Koncentracija u krvi (plazmi)
aluminij	↑
bakar	↑≈↓
cink	↓
kadmij	↑
kobalt	↑
krom	↑
mangan	↓
molibden	↑
nikal	↑↓
olovo	↑
selen	↓
željezo	↓

Tumač znakova:

- ≈ nema značajne promjene
- ↑ značajni porast
- ↓ značajno smanjenje

1.6. Vitaminski status u bolesnika s bubrežnom bolešću

U bubrežnih bolesnika s dijagnosticiranom uremijom učestalo se pojavljuje nedostatak brojnih vitamina. Više čimbenika doprinosi nedostatku vitamina u bubrežnih bolesnika:

1. bubrežno oštećenje rezultira smanjenjem stvaranja aktivnog metabolita vitamina D (kalcitriola);
2. unos vitamina u uremiji je često smanjen uslijed pothranjenosti i pridruženih bolesti;
3. osobitosti u prehrani odražavaju se na smanjen unos nekih hidrosolubilnih vitamina;
4. bubrežne bolesti utječu na apsorpciju (riboflavin, folat, vitamin D), metabolizam (folat, piridoksin) i biološku raspoloživost nekih vitamina;
5. pojedini lijekovi koje primaju bubrežni bolesnici utječu na apsorpciju, metabolizam i biološku aktivnost vitamina;
6. hidrosolubilni vitamini se ubrzano uklanjaju hemodijalizom (askorbinska kiselina);
7. u akutnim bubrežnim bolestima je snižena koncentracije liposolubilnih vitamina (vitamin A, E, D), dok je povišena koncentracija vitamina K.

Suvišan nadomjestak pojedinih vitamina može uzrokovati neželjene učinke. Nadomjestak askorbinske kiseline (>500 mg/d) može uzrokovati taloženje oksalata (netopljivi metabolit askorbinske kiseline) u mekim tkivima i bubrežima [16,29,51].

1.7. Uremijski toksini, stvaranje eritropoetina i anemija kronične bubrežne bolesti

Pojavnost neuropatije i osteodistrofije je učestalija u bolesnika liječenih hemodijalizom u usporedbi s peritonejskom dijalizom budući da se spojevi srednje molekulske mase učinkovitije uklanjaju peritonejskom dijalizom (MM=300-5000 Da; brojni hormoni i uremijski toksini) [8,52-55].

Uremijski toksin (3-karboksi-4-metil-5-propil-2-furanopropionat) učinkovito se uklanja jedino tijekom visokoprotocnog postupka hemodijalize što pridonosi porastu učinkovitosti eritropoetina u liječenju anemije u bolesnika liječenih hemodijalizom [8]. Uremijski toksini narušavaju funkciju Na^+/K^+ crpke u eritrocitnoj membrani što može potaknuti hemolizu.

Razvoju anemije mogu pogodovati: mikroangiopatija, splenomegalija, gubici krvi, poremećaj metaboličkog puta pentoza-fosfata u eritrocitima uz porast *osmotske fragilnosti* eritrocita (poremećaj hemoreoloških svojstava eritrocita), skraćenje vijeka eritrocita (70-80

dana), upala, oksidacijski stres te izloženost toksičnim metalima (arsen, aluminij i vanadij) ili nedostatak esencijalnih metala (bakar i željezo) [16,29,45,56].

Nedostatno stvaranje eritropoetina u bubrezima jedan je od ključnih čimbenika u razvoju anemije u kroničnoj bubrežnoj bolesti. U bubrezima se stvara 90% eritropoetina, dok se manje količine eritropoetina stvaraju u jetri. Brojni citokini: interleukin-1 alfa (*IL-1 α*), *IL-2*, interleukin-10 (*IL-10*), interferon-gama (*IFN- γ*) i *TNF- α* te transformirajući čimbenik rasta beta (*TGF- β*) nepovoljno utječu na eritropoezu pa pogoduju razvoju anemije kronične bolesti.

U regulaciji sinteze eritropoetina ključnu ulogu ima čimbenik 1 potaknut hipoksijom (*HIF1*) koji se veže na pojačivač izražaja gena ovisan o kisiku čime potiče prijepis *mRNK*-a za eritropoetin i brojne proteine koji sudjeluju u metabolizmu željeza.

Ključni mehanizam prepoznavanja razine oksigenacije u stanici je hidroksilacija *HIF1 α* podjedinice posredstvom specifičnih prolin-hidroksilaza. Metabolizam *HIF1 α* je pod nadzorom ubikvitinsko-proteasomskog sustava koji uklanja *HIF1 α* u normoksiji ili kod primjerene raspoloživosti željeza. U hipoksiji *HIF1 α* podjedinica se udružuje s *HIF1 β* podjedinicom, a vezanje ovog dimernog čimbenika na specifične slijedove unutar promotora gena osjetljivih na hipoksiju rezultira izražajem tih gena.

U oksidacijskom stresu *HIF1 α* se nespecifično oksidira (neovisno o razini oksigenacije) posredstvom *RKM*-a što potiče uklanjanje *HIF1 α* . Elementi u tragovima utječu na stvaranje *HIF1 α* , primjerice, vanadat i nikal potiču izražaj gena za *HIF1 α* . Nadalje, dvovalentni kationi (kobalt, nikal i mangan) stabiliziraju strukturu *HIF1 α* pa ti metali sprječavaju željezom potaknutu razgradnju *HIF1 α* . *HIF1* slovi kao čvorišna točka u kojoj se prožimaju učinci oksidacijskog stresa i elemenata u tragovima na izražaj gena za eritropoetin [56-59].

Primjena eritropoetina može uzrokovati funkcionalni nedostatak željeza u bolesnika liječenih hemodijalizom (feritin < 100 $\mu\text{g/L}$ i/ili zasićenje transferina < 20%) pa je tada potrebno nadomjestiti željezo. Tjedna doza epoetina- α se postupno uvodi od 120 do 300 U/kg TM do postizanja ciljne vrijednosti hematokrita (33-36%) ili hemoglobina (110-120 g/L) [14,20,56, 57,60,61]. Učinkovitost liječenja eritropoetinom može se procijeniti izračunom pokazatelja rezistencije (neučinkovitosti) antianemika u liječenju anemije koji predstavlja omjer između prosječne tjedne doze eritropoetina izražene po kilogramu tjelesne mase i koncentracije hemoglobina [61].

U liječenju anemije kronične bubrežne bolesti rabe se različiti rekombinantni pripravci ljudskog eritropoetina. Eritropoetin je kompleksni glikoprotein sastavljen od 165 aminokiselina i četiri ugljikohidratne sastavnice na koje otpada 40% molekulske mase

eritropoetina. Poluvijek eritropoetina u krvnom optoku izravno je povezan s prisutnošću sijalinske kiseline na N-glikanskom ostatku (eritropoetin sadrži do 14 ostataka sijalinske kiseline). Asijalo-eritropoetin se brzo uklanja posredstvom galaktoznih receptora na hepatocitima. U kliničkoj praksi se rabe različiti pripravci eritropoetina: Eprex (epoetin- α) i Recormon (epoetin- β) koji imaju identičan aminokiselinski slijed, međutim razlikuju se u strukturi i biofizičkim osobitostima ugljikohidratne sastavnice molekule eritropoetina. Epoetin- α je homogeniji pripravak jer ima manji broj izooblika te ima nešto kraći poluvijek u krvnom optoku u usporedbi s epoetinom- β . Međutim, Eprex i Recormon imaju podjednake osobine i kliničke učinke [62].

U uporabi je i darbepoetin- α koji ima veći udio ugljikohidratnih sastavnica (51%) i manje razlike u aminokiselinskom slijedu što rezultira duljim poluvijekom darbepoetin- α u krvnom optoku (25 sati) u usporedbi s Eprexom i Recormonom (6-9 sati), međutim darbepoetin- α ima slabiji afinitet prema eritropoetinskim receptorima [62].

U bolesnika liječenih hemodijalizom je izgledna hemokoncentracija već pri porastu hematokrita (**Hct** > 38%) ili hemoglobina (**Hb** > 130 g/L) pa je tada potrebno razmotriti daljnju primjenu antianemika. U liječenju eritropoetinom katkad izostaje postizanje željenog terapijskog učinka u liječenju anemije pa je potrebno povećati dozu eritropoetina. Uzroci smanjenja učinkovitosti eritropoetina u liječenju anemije su mnogobrojni (tab. 1-3). Primjena eritropoetina u tjednoj dozi većoj od 450 U/kg TM tijekom 4-6 mjeseci uz izostanak postizanja ciljne vrijednosti hemoglobina upućuje na pojavu neučinkovitosti eritropoetina (rezistencija) u liječenju anemije prema smjernicama *National Kidney Foundation - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative NKF-KDOQI* [16,63-66]. Učinkovitost nadomjesnog liječenja željezom u bolesnika liječenih hemodijalizom, prema preporukama *European Renal Association - European Best Practice Guidelines (ERA-EBPG)* i/ili *NKF-KDOQI*, potrebno je pratiti određivanjem biokemijskih i hematoloških pokazatelja statusa željeza (tab. 1-4) kako bi se osigurala primjerena raspoloživost željeza ili izbjeglo preopterećenje željezom [64,67-72]. Povišena koncentracija feritina (**FT** > 500 μ g/L) i smanjeno zasićenje transferina (**TSAT** < 25%) često je povezano s upalom u bolesnika liječenih hemodijalizom [73].

Tablica 1-3. Čimbenici koji smanjuju učinkovitost eritropoetina u liječenju anemije kronične bubrežne bolesti

Nepoželjni čimbenici	
•	Apsolutni i/ili funkcionalni nedostatak željeza
•	Krvarenja
•	Nedostatak folata
•	Nedostatak kobalamina
•	Nedostatak askorbinske kiseline
•	Upala i/ili infekcije
•	Sindrom pothranjenosti-upale-ateroskleroze (<i>MIA</i> -sindrom)
•	Hiperparatireoidizam
•	Preopterećenje aluminijem
•	Hemoglobinopatije
•	Zloćudne novotvorine
•	Hemoliza
•	Pojava protutijela na eritropoetin
•	Primjena ACE-inhibitora ili blokatora angiotenzinskih receptora
•	Neučinkovitost dijalize
•	Nedostatak karnitina
•	Hipoalbuminemija uz pridruženu upalu i pothranjenost

Tablica 1-4. Ciljni rasponi za pokazatelje statusa željeza u bolesnika liječenih hemodijalizom prema smjernicama *European Renal Association - European Best Practice Guidelines* i/ili *National Kidney Foundation - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* [71]

Pokazatelj statusa željeza	Granične ciljne vrijednosti	
	preporučeno	klinički prihvatljivo
Feritin (µg/L)	200-500	100-800
Zasićenje transferina željezom (%)	30-40	20-50
Udio hipokromnih eritrocita (%)	<2,5	<10

1.8. Oksidacijski stres

Oksidacijski stres se očituje kao neravnoteža između stvaranja reaktivnih kisikovih metabolita (*RKM*) i/ili reaktivnih dušikovih metabolita (*RDM*) te kapaciteta antioksidacijskog sustava obrane (tab. 1-5). Oksidacijski stres potiče obrambeni stanični odgovor što rezultira aktivacijom različitih unutarstaničnih glasnika koji mogu pridonijeti uklanjanju oštećenja ili mogu potaknuti apoptozu [74-77].

Radikal je svaki atom, molekula ili ion koji sadrži barem jedan nespareni elektron. Slobodni radikali su prisutni u niskim koncentracijama (10^{-5} - 10^{-9} M).

Tablica 1-5. Najučestaliji reaktivni kisikovi i/ili dušikovi metaboliti koji sudjeluju u brojnim fiziološkim i/ili patofiziološkim procesima. Nadopunjeno; djelomično preuzeto iz izvornika: Pharm Res 1996;**13**:649-662 [77]

Reaktivni kisikovi metaboliti			
Radikali		Ne-radikali	
Superoksidni radikal (anion)	O_2°	Vodikov peroksid	H_2O_2
Hidroksilni radikal	HO°	Hipoklorasta kiselina	$HOCl$
Peroksilni radikal	ROO°	Ozon	O_3
Alkoksilni radikal	RO°	Singletni kisik	$O_2 (^1\Delta g)$
Hidroperoksilni radikal	HO_2°	Peroksinitrit	$ONOO^-$
Reaktivni dušikovi metaboliti			
Radikali		Ne-radikali	
Dušikov oksid	NO°	Nitrozilni kation	NO^+
Dušikov dioksid	NO_2°	Nitroksilni anion	NO^-
		Dušičasta kiselina	HNO_2
		Didušikov trioksid	N_2O_3
		Didušikov tetraoksid	N_2O_4
		Nitronijev kation	NO_2^+
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Alkilni peroksinitriti	$ROONO$

1.8.1. Reaktivni kisikovi metaboliti

RKM-i po kemijskoj strukturi su radikali (superoksidni radikal, hidroksilni radikal i peroksilni radikal) i ne-radikali (vodikov peroksid i singletni kisik).

Membranska nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat-oksidaza (**NADPH-oksidaza**) u neutrofilima i makrofagima je značajan izvor superoksidnog radikala. Superoksidni radikal u doticaju s kationima prijelaznih metala (željezo i bakar) prelazi u reaktivni hidroksilni radikal koji trenutačno i mjesno-specifično reagira s dostupnim biomolekulama [16]:

- dušičnim bazama u nukleinskim kiselinama (8-hidroksigvanozin ili 8-deoksigvanozin);
- proteinima (proteinski karbonili);
- masnim kiselinama u lipidima (malondialdehid ili 4-hidroksinoneal).

Nadalje, tirozilni radikal se stvara u reakciji između vodikovog peroksida i tirozina posredstvom mijeloperoksidaze što pogoduje razvoju ateroskleroze [16,28,78,79].

1.8.2. Reaktivni dušikovi metaboliti

RDM-i sudjeluju u brojnim fiziološkim i patološkim procesima. Dušikov oksid (**NO**) je ponajprije glasnička molekula. Dušikov oksid se stvara uglavnom iz arginina posredstvom

sintaze dušikova oksida (*NO-sintaze*) čija aktivnost ovisi o kalciju i brojnim drugim čimbenicima. *NO-sintaza* i *NADPH-oksidaza* su prisutne u makrofagima i neutrofilima pa u oksidacijskom prasku i upali dušikov oksid i superoksidni radikal stvoreni posredstvom *NO-sintaze* i *NADPH-oksidaze* međusobno reagiraju stvarajući značajne količine reaktivnijih spojeva (peroksinitrit). Peroksinitrit je jaki oksidans pa reagira s cisteinom, metioninom i tirozinom u proteinima. Peroksinitrit potiče otpuštanje bakra iz ceruloplazmina što rezultira peroksidacijom lipida u *LDL*-u [16,80].

1.8.3 Oksidacijski stres u bubrežnih bolesnika

Završni stadij bubrežnog zatajenja popraćen je porastom razine oksidacijskog stresa uslijed narušavanja antioksidacijskog sustava obrane (nedostatak vitamina C, vitamina E i selena te poremećaj funkcije glutationskog sustava) uz popratnu prevagu prooksidacijskih čimbenika (starija dob, pridružene bolesti: šećerna bolest, kronična upala, biološka nekompatibilnost dijaliznih membrana i/ili otopina) te pridruženu izloženost endotoksinu. Oksidacijski stres u kroničnih bubrežnih bolesnika očituje se:

- porastom koncentracije oksidiranih lipidnih, ugljikohidratnih i proteinskih spojeva u plazmi i staničnim membranama; porast koncentracije produkata peroksidacije lipida i glikoksidacijskih produkata te uznapredovalih oksidacijskih proteinskih produkata (*AOPP*), odnosno proteinskih karbonila (*PK*);.
- porastom omjera između oksidiranog i reduciranog glutaciona, askorbata i albumina.

Višestruki porast koncentracije proteinskih karbonila (oksidacijski stres) u uremiji je udružen s porastom uznapredovalih završnih produkata glikacije (*AGE*) i uznapredovalih završnih produkata lipoksidacije (*ALE*). *AGE* se stvaraju ne-enzimskom glikacijom i oksidacijom (glikoksidacijom). *AGE* se vežu na albumin u plazmi te na specifične membranske receptore *RAGE* na endotelnim i mišićnim stanicama. *ALE* se stvaraju u reakciji reaktivnih aldehida malondialdehida (*MDA*) i hidroksinonenala (*HNE*) s proteinima pri čemu nastaju proteinski adukti.

Oksidirani albumin je najzastupljenija sastavnica proteinskih karbonila u bolesnika liječenih hemodijalizom i željezom. Oksidirani albumin se katabolizira 11 puta brže od albumina. Uobičajeno smanjenje koncentracije albumina u bolesnika liječenih hemodijalizom može pridonijeti porastu oksidacijskog stresa [13,81-87].

Oksidacijski stres može doprinijeti razvoju brojnih komplikacija u uremiji (ateroskleroza, srčanožilne, moždanožilne bolesti, amiloidoza, pothranjenost, anemija, neučinkovitost

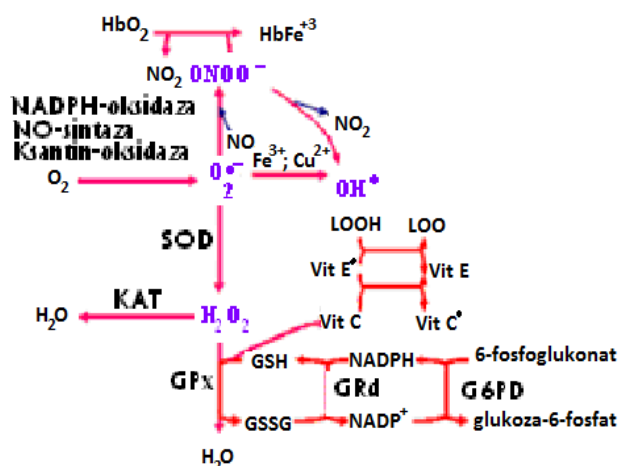
eritropoetina u liječenju anemije i dr.). Prema dostupnim literaturnim podacima izgledno je da nadomjesno liječenje vitaminom C ili vitaminom E može smanjiti rizik od srčanožilnih bolesti u kroničnih bubrežnih bolesnika [81,88].

Intravenska primjena željeza u bolesnika liječenih hemodijalizom može potaknuti oksidacijski stres uslijed oslobađanja željeza iz ugljikohidratnog kompleksa što rezultira proteinurijom i enzimurijom uz popratno povećano izlučivanje malondialdehida u mokraći te pridruženi porast proteinskih karbonila i ne-transferinskog željeza, odnosno porast koncentracije esterificiranih F₂-izoprostana u plazmi [89-93].

1.8.4. Eritrociti i oksidacijski stres

Eritrociti su krvne stanice s glavnom zadaćom da osiguravaju prijenos kisika do udaljenih tkiva. Prosječno 80-90% glukoze u eritrocitima metabolizira se anaerobnom glikolizom do laktata uz sintezu *ATP*-a dok se preostalih 10-20% glukoze metabolizira putem pentoza-fosfata. U pentoza-fosfatnom putu se stvara reducirani koenzim *NADPH* koji je nužan za održavanje ustaljene koncentracije reduciranog glutaciona (*GSH:GSSG=100:1*) što je značajno za sprječavanje oštećenja membrane. Eritrociti slove kao najznačajnija sastavnica antioksidacijskog sustava obrane u krvi budući da eritrociti sadrže značajne količine reduciranog glutaciona te posjeduju učinkovit sustav antioksidacijskih enzima. Antioksidacijski sustav eritrocita pokazuje sistemske učinke s obzirom da eritrociti krvnim optokom dopijevaju do perifernih tkiva (sl. 1-5)

Stanovite količine superoksidnog radikala u eritrocitima se stvaraju posredstvom autooksidacije hemoglobina u methemoglobin. Stvoreni *RKM* mogu oštetiti eritrocit, međutim *RKM* uglavnom prolaze kroz eritrocitnu membranu u plazmu. Vodikov peroksid može izravno prolaziti kroz membranu, dok superoksidni anion prolazi isključivo kroz anionske kanale. Oksidacijski stres može potaknuti oksidaciju kalcijeve *ATPaze* u membrani eritrocita što rezultira porastom koncentracije kalcija i smanjenjem deformabilnosti eritrocita, odnosno skraćanjem vijeka eritrocita. Nadalje, nakupljanje vodikovog peroksida u oksidacijskom stresu pogoduje stvaranju kovalentnih veza između proteina (spektrin i hemoglobin) što dodatno pridonosi promjenama oblika, odnosno deformabilnosti eritrocita [94,95].



Slika 1-5. Međuodnos između reaktivnih kisikovih/dušikovih metabolita i antioksidacijskog sustava obrane u eritrocitima. Prerađeno; preuzeto iz izvornika: Clin Chim Acta. 2008;**390**:1-11 [94].

1.9. Antioksidacijski sustav obrane

Antioksidansi su endogene ili egzogene tvari koje učinkovito sprječavaju ili usporavaju oksidaciju. Antioksidacijski enzimi i ne-enzimski antioksidansi čine antioksidacijski sustav obrane [1,80].

U enzimске antioksidanse ubrajaju se superoksid-dismutaza (*SOD*), katalaza (*KAT*), glutation-peroksidaza (*GPx*), glutation-reduktaza (*GRd*), paraoksonaza 1 (*PONI*) i pseudokolinesteraza (*KEs*). U fiziološkim uvjetima antioksidacijski enzimi su odgovorni za održavanje oksidacijsko-redukcijske homeostaze [80].

Brojne tvari, pa tako i kationi metala, inhibiraju ili potiču katalitičku aktivnost antioksidacijskih enzima. Status elemenata u tragovima može značajno utjecati na učinkovitost antioksidacijskog sustava obrane. Brojni dvovalentni kationi (*Cd, Co, Fe, Hg, Ni, Pb, Zn, Mn, Mg, Cu, Ba, La*) inhibiraju, a natrij i kalcij aktiviraju *PONI*; arsen, živa, kadmij i krom inhibiraju *GRd*; arsen inhibira, a kalcij i magnezij aktiviraju *G6PD*; živa i molibden inhibiraju *KEs*; krom i živa inhibiraju *SOD*; krom, arsen i živa inhibiraju *GPx*; živa inhibira *KAT* [59,96,97].

1.9.1. Stanični antioksidacijski sustav obrane

Superoksid-dismutaza (*SOD*, EC 1.15.1.1)

Superoksid-dismutaza je metaloenzim odgovoran za uklanjanje superoksidnog radikala. Superoksid-dismutaza se nalazi u citosolu (*Cu/Zn-SOD; SOD1*), u mitohondriju (*Mn-SOD; SOD2*) te u izvanstaničnom prostoru (*EC-SOD; SOD3*). Superoksid-dismutaza katalizira

reakciju disproporcioniranja superoksidnog radikala pri čemu se stvara vodikov peroksid i kisik:



Suvišak superoksid-dismutaze, posebno ako je udružen s nedostatkom glutation-peroksidaze i/ili katalaze, može imati neželjeni prooksidacijski učinak s obzirom da pogoduje stvaranju i nakupljanju vodikovog peroksida. Sinteza superoksid-dismutaze u stanici ovisi o oksido-redukcijskom staničnom potencijalu [16,80].

Izvanstanična superoksid-dismutaza **SOD3** može imati značajnu ulogu u zaštiti krvožilne stijenke. **SOD3** ima ključnu ulogu u uklanjanju superoksidnog radikala s površine endotelne stanice krvnih žila [16]. **SOD3** katalizira disproporcioniranje superoksidnog radikala čime onemogućuje kompeticijsku reakciju između superoksidnog radikala i dušikovog oksida pa porast aktivnosti **SOD3** rezultira produljenjem vijeka dušikovog oksida i smanjenjem oksidacije **LDL**-a. Sinteza **SOD3** je pod nadzorom citokina, čimbenika rasta i oksidansa, a smanjenje **SOD3** je opaženo u srčanožilnim bolestima [98]. Porast **SOD3** posredstvom angiotenzina II je opažen u hipertenziji, dok je smanjenje **SOD3** opaženo u homocisteinemiji [74,79].

Urat sprječava inaktivaciju **SOD3** posredovanu vodikovim peroksidom. Osim što sprječava inaktivaciju **SOD3** urat ima značajnu antioksidacijsku ulogu budući da reagira sa slobodnim radikalima te kompleksira redoks-aktivne katione prijelaznih metala [98,99].

Katalaza (KAT, EC 1.11.1.6)

Katalaza je metaloenzim (tetramerni hemski protein) sa željezom u aktivnom središtu (240 kDa). Katalaza katalizira razgradnju vodikovog peroksida u vodu i kisik:

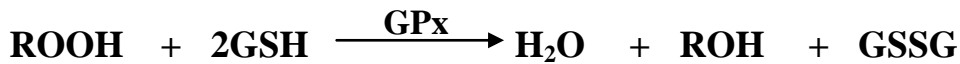


Katalaza se nalazi ponajprije u peroksisomima te u citosolu eritrocita i hepatocita.

Glutation-peroksidaza (GPx, EC 1.11.1.19)

Glutation-peroksidaza je selenoenzim (85 kDa) koji katalizira razgradnju vodikovog peroksida i organskih hidroperoksida uz istodobnu oksidaciju glutationa **GSH** pri čemu se stvaraju oksidirani glutation **GSSG** i voda, odnosno pripadni alkohol. Kemijske reakcije katalizirane **GPx**-om su:





GPx se nalazi ponajprije u jetri i bubrezima te srcu, plućima i mozgu. U kroničnim bubrežnim bolestima često se opaža nedostatak selena uz pridruženo sniženu *GPx* što može pogodovati porastu razine oksidacijskog stresa u bubrežnim bolestima [19,74,100].

Glutation-reduktaza (*GRd*, EC 1.8.1.7)

Glutation-reduktaza je enzim koji katalizira redukciju *GSSG* u reducirani glutation (*GSH*) uz utrošak koenzima *NADPH*. *GRd* je nužna za održavanje ustaljene koncentracije reduciranog glutationa. Kemijska reakcija katalizirana *GRd*-om je [75]:

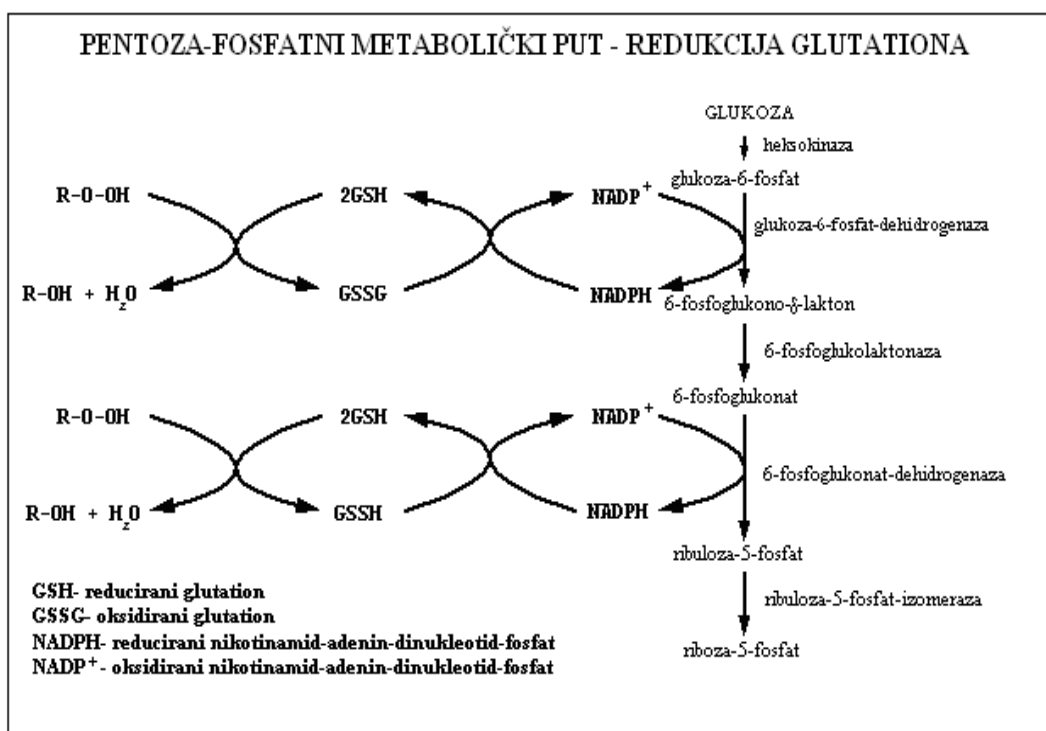


Tioredotsinski antioksidacijski sustav

Sustav tioredoksina sastoji se od tioredoksina, tioredoksin-reduktaze i tioredoksin-peroksidaze. Tioeredoksini su proteini (10-12 kDa) koji se reverzibilno oksidiraju pri čemu se stvara disulfidna veza između dva susjedna cisteina u tioredoksinu. Tioeredoksin-peroksidaza je enzim koji katalizira razgradnju vodikovog peroksida i organskih peroksida uz oksidaciju tioredoksina. Oksidirani tioredoksin se reducira posredstvom tioredoksin-reduktaze (selenoenzim) uz utrošak *NADPH* (pentoza-fosfatni metabolički put). Tioeredoksin je ključan u redukciji askorbilnog radikala, glutatioliranih, hidroksiliranih, tj. oksidiranih i S-nitroziliranih proteina [75,79,80,101].

Glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza (*G6PD*, EC 1.1.1.49)

Glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza je citosolni enzim koji katalizira oksidaciju glukoza-6-fosfata u 6-fosfoglukonolakton uz utrošak koenzima *NADP*⁺. U pentoza-fosfatnom metaboličkom putu *G6PD* je enzim koji ograničava brzinu metaboličke razgradnje glukoze i ima ključnu ulogu u zaštiti eritrocita od oksidacijskog stresa budući da je *G6PD* nužan za održavanje ustaljene koncentracije *NADPH* i reduciranog glutationa pa posljedično i oksido-redukcijskog staničnog potencijala (sl. 1-6). *G6PD* u fagocitima osigurava dostatnu količinu reduciranog koenzima *NADPH* koji reducira molekularni kisik u superoksidni radikal u respiracijskom prasku [102-104].



Slika 1-6. Pentoza-fosfatni metabolički put. Prerađeno; preuzeto iz izvornika: Baillieres Best Pract Res Clin Haematol 2000;**13**:21-38 [103].

1.9.2. Antioksidansi i antioksidacijski enzimi u plazmi

Antioksidacijski enzimi (katalaza, superoksid-dismutaza, glutation-peroksidaza) i glutation se nalaze u zanemarivo malim količinama u plazmi. Značajni antioksidansi u plazmi su:

- niskomolekulski antioksidansi (askorbinska kiselina, tokoferoli, karoteni, flavonoidi, ubikinol 10, urat i bilirubin);
- proteini plazme (ceruloplazmin, albumin, transferin, feritin, hemopeksin i haptoglobin);
- antioksidacijski enzimi (paraoksonaza i pseudokolinesteraza).

Paraoksonaza (*PONI*, EC 3.1.8.1)

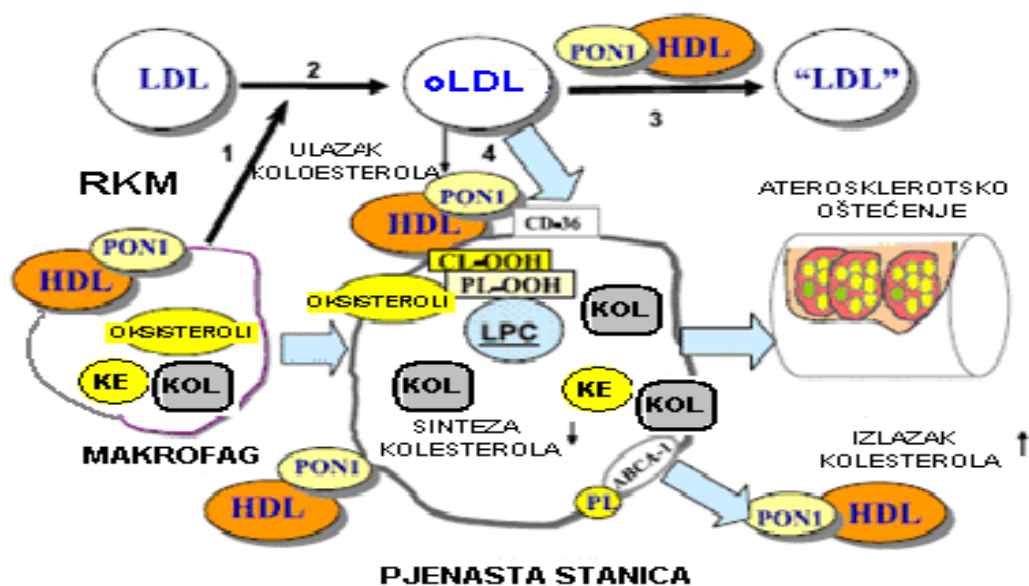
Paraoksonaza 1 (*PONI*) je glikozilirani enzim (43-47 kDa) koji je ponajprije vezan na fosfolipide u *HDL*-u. U nedostatku lecitin-kolesterol-aciltransferaze (*LCAT*) i apolipoproteina E *PONI* se značajnije veže na *VLDL* i hilomikrone. Porast koncentracije postprandijalnih hilomikrona značajno usporava peroksidaciju lipida što se pripisuje hidrolizi lipidnih hidroperoksida posredstvom *PONI*. *PONI* reverzibilno veže i hidrolizira organofosfate (aril/alkil-fosfataza), odnosno katalizira hidrolizu fosfolipidnih hidroperoksida i proupalnog čimbenika aktivacije trombocita (*PAF*) pa joj se pripisuje protuzgrušavajuće djelovanje.

PONI uklanja lipidne, fosfolipidne i kolesterolske hidroperokside te posljedično usporava oksidaciju **LDL**-a posredstvom **RKM**-a. Sve paraoksonaze imaju laktonazno djelovanje što čini izglednim da je laktonazna aktivnost osnovna fiziološka uloga **PONI** (hidroliza homocisteinskih tiolaktona). Nakupljanje homocisteinskih tiolaktona uz smanjenu aktivnost **PONI** može rezultirati oštećenjem krvožilne stijenke uslijed poremećaja funkcije endotela. Porast koncentracije homocisteina u bubrežnim bolestima uz pridruženo smanjenje aktivnosti **PONI** pridonose nakupljanju homocisteinskog tiolaktona što potiče razvoj ateroskleroze.

Snižena aktivnost **PONI** je opažena u brojnim bolestima i stanjima: srčanožilnim bolestima, šećernoj bolesti, reumatoidnom artritisu, jetrenim i bubrežnim bolestima, u bolesnika liječenih hemodijalizom te u hiperkolesterolemiji, upali i trudnoći. Porast oksidacijskog stresa može rezultirati smanjenjem aktivnosti **PONI**. U bolesnika liječenih hemodijalizom nakupljanje uremijskih toksina i **AGE** mogu imati ključnu ulogu u smanjenju **PONI**. Porast **CRP**-a, proaterogeni lipoproteinski fenotip, smanjenje aktivnosti **PONI** uz pridruženi porast oksidacijskog stresa u uremiji pridonose značajnom porastu rizika od srčanožilnih bolesti [97,105-112]. Izloženost arsenu uz pridruženo smanjenje aktivnosti **PONI** višestruko pogoduje razvoju ateroskleroze [113]. **PONI** usporava preobrazbu makrofaga u pjenaste stanice s obzirom da **PONI** sprječava ulazak **oLDL**-a u makrofage, smanjuje sintezu kolesterola te potiče ulazak **HDL**-a u makrofage (sl. 1-7) [114]. Opisani su brojni polimorfizmi u genu za **PONI**, primjerice glutamin-192-arginin (Q192R) i leucin-55-metionin (L55M). Polimorfizam L55M utječe na količinsku koncentraciju **PONI**, dok polimorfizam Q192R utječe na paraoksonaznu katalitičku aktivnost **PONI** [97,115,116].

Paraoksonaza 2 (PON2) je stanični enzim (44 kDa) koji štiti stanicu od posljedica oksidacijskog stresa, a nalazi se u makrofagima te u brojnim drugim stanicama: stanicama jetre, pluća, posteljice, testisa, mozga i srca. **PON2** sudjeluje u metabolizmu minimalno modificiranih **LDL** molekula.

Paraoksonaza 3 (PON3) je enzim (40 kDa) koji se sintetizira ponajprije u jetri. U malim količinama je vezana na **HDL** u plazmi. **PON3** nema paraoksonazno/arilesterazno djelovanje pa ne razgrađuje sintetske spojeve (paraokson ili fenilacetat) [105,111,116].



Slika 1-7. Paraoksonaza sprječava preobrazbu makrofaga u pjenaste stanice čime sprječava razvoj ateroskleroze. Nakupljanje kolesterola u makrofagima može biti posljedica povećanog ulaska **oxLDL**-a, povećane sinteze kolesterola i smanjenog otpuštanja kolesterola posredovanog **HDL**-om. **PON1** koja je vezana na **HDL** može spriječiti nepoželjne učinke **oxLDL**-a u makrofagima različitim mehanizmima: (1) hidroliza oksidiranih lipida u makrofagima; (2) smanjenje oksidacije **LDL**-a posredstvom makrofaga; (3) smanjenje količine **oxLDL**-a hidrolizom oksidiranih lipida u **oxLDL** česticama; (4) smanjeni ulazak **oxLDL**-a u makrofag posredstvom receptora-čistača **CD-36** (engl. *scavenger receptor*) zbog učinkovite hidrolize oksidiranih lipida u neposrednoj okolini receptora-čistača. **PON1** koja je vezana na **HDL** smanjuje sintezu kolesterola i povećava otpuštanje kolesterola iz makrofaga posredstvom membranskog transportnog sustava **ABCA1** (engl. *ATP binding cassette transporter A1*; **ABCA1**). Prerađeno i preuzeto iz izvornika: *Free Radic Biol Med* 2004;**37**:1304-1316 [114].

KE: esterificirani kolesterol; **KOL:** neesterificirani kolesterol; **PL:** fosfolipidi; **oxLDL:** oksidirani LDL; **CL-OOH:** kolesteril-linoleatni hidroperoksidi; **PL-OOH:** fosfolipidni hidroperoksidi; **RKM:** reaktivni kisikovi metaboliti; **LPC:** lizofosfatidilkolin.

Pseudokolinesteraza (**KEs**, EC 3.1.1.8)

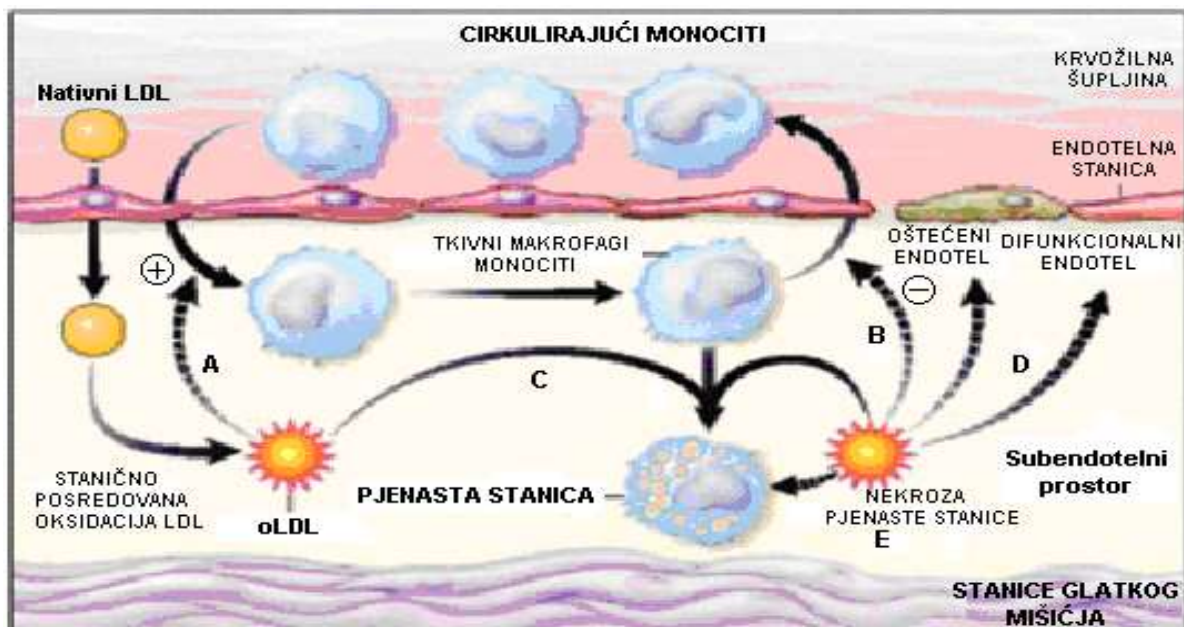
Serumska pseudokolinesteraza (**KEs**), poput **PON1**, može značajno usporiti stvaranje lipidnih peroksida u **LDL**-u. S obzirom na arilesteraznu aktivnost **KEs**-a može značajno usporiti oksidaciju **LDL**-a. Aktivnost **KEs**-a je značajno snižena u oksidacijskom stresu i pothranjenosti te u bolesnika liječenih hemodijalizom [117,118].

1.10. Rizik od srčanožilnih bolesti i oksidacijski stres u bolesnika liječenih hemodijalizom

1.10.1. Ateroskleroza

Ateroskleroza je vodeći uzrok pobola i smrtnosti u razvijenim zemljama. Ateroskleroza je višestruki kronična upalna bolest krvožilja (sl. 1-8). Proces ateroskleroze započinje

izražajem adhezijskih molekula na membrani endotelnih stanica te prodiranjem upalnih stanica (monociti) u subendotelni prostor stijenke krvne žile. Monociti se preobražavaju u makrofage s povećanim izražajem membranskih receptora za oksidirane lipoproteine (receptori-čistači). Nakupljajući oksidirane lipoproteine makrofagi se preobražavaju u pjenaste stanice koje čine masnu prugu. Nakon apoptoze pjenaste stanice se raspadaju pri čemu se stvara lipidna jezgra (primarni aterosklerotski plak) oko koje se nakupljaju stanice vezivnoga tkiva (fibroblasti). Stanice vezivnog tkiva luče sastavnice izvanstaničnog matriksa pa se stvara fibrozni plak i fibrozna kapa. Uznapredovali fibrozni plak je podložan kalcifikaciji i/ili napuknuću pri čemu prokoagulacijske sastavnice iz unutrašnjosti lipidnog plaka dolaze u doticaj s trombocitima što rezultira sljepljivanjem trombocita, stvaranjem ugruška i posljedičnim prekidom krvnog optoka (akutni koronarni sindrom) [79].



Slika 1-8. Hipoteza o učincima oksidacijskih preinaka **LDL-a** u razvoju ateroskleroze. **LDL** u subendotelnom prostoru se oksidira u stanicama glatkog mišićja, endotelnim stanicama i makrofagima. Stvoreni **oLDL** potiče: (A) privlačenje monocita posredstvom kemotaksije; (B) nakupljanje monocita u subendotelu; (C) stvaranje pjenastih stanica. Nadalje, **oLDL** narušava funkciju endotela (D), a nakupljanje **oLDL-a** rezultira nekrozom pjenastih stanica (E). *Physiol Rev* 2004;**84**:1381-1478 [79].

Oksidacijski stres u uremiji pogoduje peroksidaciji lipida, stvaranju reaktivnih aldehida (**MDA** i **HNE**) i nakupljanju oksidiranih sulfhidrilnih spojeva što doprinosi porastu rizika od razvoja srčanožilnih bolesti u bubrežnih bolesnika [79,119-124]. Nadalje, fagocitna mijeloperoksidaza potiče upalni odgovor oponašajući djelovanje **NO**-oksidaze umanjujući time raspoloživost dušikovog oksida. Stanovita količina mijeloperoksidaze oslobađa se iz

aktiviranih leukocita u krvotok, posebice tijekom hemodijalize. Mijeloperoksidaza je izgledna poveznica između upale, oksidacijskog stresa i poremećaja funkcije endotela u bolesnika liječenih hemodijalizom [8,81,125]. Promjena oksido-redukcijskog staničnog potencijala posredstvom **RKM**-a može uzrokovati aktivaciju nuklearnog čimbenika-kappa B (**NF-κB**) i posljedičnu sintezu proupalnih citokina (**IL-6**) te stvaranje proteina akutne faze i adhezijskih staničnih molekula. **RKM/RDM** mogu aktivirati nekoliko matriksnih metaloproteinaza što posljedično može narušiti stabilnost aterosklerotskog plaka. Upala, oksidacijski stres, izražaj gena antioksidacijskih enzima (**SOD**, **KAT** i dr.), metabolizam elementa u tragovima te aterogeneza su pod izravnim ili neizravnim nadzorom sustava transkripcijskog čimbenika **NF-κB** [8,75,79,126,127].

1.10.2. Proaterogeni pokazatelji lipidnog statusa te poveznice između metabolizma lipida i željeza

U razvoju ateroskleroze značajnu ulogu imaju male **LDL** čestice. Omjer između triglicerida i **HDL**-kolesterola (**TG/HDL**) pozitivno je povezan s porastom udjela malih **LDL**-a, odnosno povećan omjer **TG/HDL** upućuje na proaterogeni lipoproteinski fenotip (**TG/HDL**>1,33) koji se povezuje s porastom rizika od razvoja ateroskleroze. Omjer **TG/HDL** je pozitivno povezan s udjelom **VLDL**-a koji se metabolizira u male **LDL** čestice [128-130].

Nadalje, razvoju ateroskleroze može pridonijeti oksidacija **LDL**-a posredstvom željeza. Stanovite količine željeza u lipoproteinima potječu od feritina vezanog na apolipoprotein B-100. Hemsko željezo (hemin) uz prisutnost vodikovog peroksida može potaknuti oksidaciju lipoproteina (**LDL** i **HDL**) [131-134]. Prema rezultatima istraživanja koje su objavili de Valk i suradnici trovalentni kation željeza se može izravno vezati na **LDL**. U aterosklerotskim plakovima nađena je veća količina željeza i bakra u usporedbi sa zdravom arterijskom stijenkom [124,135,136]. Superoksidni radikal može reducirati trovalentno željezo u feritinu pri čemu se iz feritina otpušta dvovalentno željezo. Slobodno (ne-transferinsko) željezo može posredovati u oksidaciji **LDL**-a, posebice u hiperkolesterolemiji, što rezultira razvojem ateroskleroze. Slobodno željezo i bakar potiču peroksidaciju lipida što pogoduje stvaranju aterosklerotskog plaka [119,137-143].

Prehrana bogata antioksidansima može umanjiti rizik od srčanožilnih bolesti, primjerice, flavonoidi stvaraju komplekse s prijelaznim metalima što sprječava oksidaciju **LDL**-a posredstvom bakra. Broj veznih mjesta za bakar u **LDL**-u povećava se sa stupnjem oksidacije **LDL**-a [136,144-146].

Oksidacija **LDL**-a se usporava u prisutnosti albumina s obzirom da albumin veže bakar. Ceruloplazmin slovi kao neovisni rizični čimbenik u razvoju ateroskleroze, a omjer između koncentracije albumina i ceruloplazmina je neovisni pretkazatelj razvoja ateroskleroze [124,136].

1.10.3. Paradoksalna epidemiološka saznanja u procjeni rizika od srčanožilnih bolesti u bolesnika liječenih hemodijalizom

Pretilost, hiperkolesterolemija, hiperhomocisteinemija, hipoferitinemija te hipertenzija, prema epidemiološkim istraživanjima, mogu doprinijeti produljenju životnog vijeka u kroničnih bubrenih bolesnika liječenih hemodijalizom što je oprečno s rezultatima epidemioloških istraživanja u zdravih ljudi. Veći indeks tjelesne mase, veća koncentracija kolesterola i kreatinina, povišen krvni tlak te hiperhomocisteinemija povezani su sa smanjenjem smrtnosti i pobola od srčanožilnih bolesti u bolesnika liječenih hemodijalizom [147-149]. Sindrom pothranjenosti-upale-ateroskleroze (**MIA**; engl. *Malnutrition-inflammation-atherosclerosis syndrome*) u bolesnika liječenih hemodijalizom je ključni uzrok pobola od srčanožilnih bolesti. U pothranjenosti se opaža porast slobodnog endotoksina uslijed smanjenja koncentracije lipoproteina. Porast slobodnog endotoksina može rezultirati upalom i porastom rizika od srčanožilnih bolesti. Liječenje statinima bolesnika liječenih hemodijalizom može pogoršati izgleda za produljenje životnog vijeka zbog neželjenih učinaka endotoksina. Pothranjenost i upala s pridruženom aterosklerozom su ključni uzroci smrtnog ishoda u bolesnika liječenih hemodijalizom. Nadalje, porast koncentracije receptora za solubilni **TNF- α** u pretilih bolesnika rezultira kardioprotekcijskim učincima [150-155].

1.11. Uloga minerala u organizmu čovjeka

Mineralni elementi (minerali) su anorganski elementi koji ne mogu nastati u ljudskom tijelu i najvećim dijelom unose se u organizam prehranom. S obzirom na prisutne količine u tijelu i svakodnevne potrebe, minerali se dijele na makroelemente (u količinama u rasponu od 100 mg do više grama), elemente u tragovima (od 1 do 100 mg) i elemente u ultratragovima (s količinama u mikrogramima) [156,157].

1.11.1. Makroelementi

Natrij

Prosječni dnevni unos natrijevog klorida prehranom iznosi oko 15 g i apsorbira se gotovo potpuno iz crijeva. Natrij je glavni izvanstanični kation bitan za odražavanje ravnoteže vode i osmotskog tlaka. Natrij se ponajprije izlučuje u mokraći. Hiponatrijemija se može pojaviti u bubrežnim bolestima, u kroničnom glomerulonefritisu zbog poliurije, smanjene reapsorpcije i povećane zamjene natrija za vodikov ion. Hipernatrijemija je izgledna u hemokonzraciji, odnosno pri značajnijem gubitku tekućine [3,7].

Kalij

Prosječni dnevni unos kalija prehranom iznosi oko 4 g. Prosječno 90% unesenog kalija se izlučuje u mokraći. Kalij je glavni stanični kation. Koncentracija kalija u eritrocitima je oko 20 puta veća nego u plazmi. Hipokalijemija se pojavljuje kod: povećanog gubitka kalija mokraćom ili gubitka kod povraćanja i proljeva, nedostatnog unosa kalija prehranom te zbog ulaska kalija u stanice. Hiperkalijemija se pojavljuje u bubrežnom zatajenju zbog smanjenog izlučivanja kalija. Porast koncentracije kalija zbog značajnijeg otpuštanja kalija iz stanica opaža se: u dehidraciji, hipoksiji, nedostatku inzulina, kod opekline, u intravaskularnoj hemolizi te tijekom povećanog mišićnog rada [3,7].

Kalcij

U ljudskom organizmu 99% kalcija je ugrađeno u kosti, a manje količine kalcija se nalaze u izvanstaničnoj tekućini. Koncentraciju ioniziranog kalcija u krvi reguliraju parathormon, vitamin D i kalcitonin pa primjeren međuodnos pobrojanih čimbenika sprječava hipokalcijemiju. Parathormon potiče oslobađanje kalcija iz kosti te smanjuje tubulsku reapsorpciju fosfata što rezultira povećanim izlučivanjem fosfata u mokraći. Kako bi se nadomjestio izlučeni fosfat potiče se razgradnja kosti te oslobađanje kalcija i fosfata iz kostiju. Kalcitonin ima fiziološko djelovanje suprotno od parathormona (potiče osteoblaste pa smanjuje koncentraciju kalcija u plazmi). Kalcitonin luči štitnjača kao odgovor na povišenu koncentraciju kalcija.

Metabolička acidoza doprinosi porastu udjela ioniziranoga kalcija i razvoju hiperkalcijemije. Suvišak kalcija uz pridruženu hiperfosfatemiju pogoduje odlaganju netopljivih kalcijevih soli u meka tkiva (koža, medija velikih arterija i dr.) [3,7,16].

Fosfati

Mješovitom prehranom unose se dostatne količine fosfata. Regulacija koncentracije fosfata je pod nadzorom parathormona, vitamina D i kalcitonina, a izlučivanje fosfata putem bubrega predstavlja osnovni regulacijski mehanizam sprječavanja hiperfosfatemije. Hiperfosfatemija se često susreće u bolesnika s bubrežnim zatajenjem te u hipoparatiroidizmu i hipervitaminozi vitamina D. Hipofosfatemija se susreće u hiperparatiroidizmu i hipovitaminozi vitamina D [3,7,16].

Magnezij

Mješovitom prehranom se unosi dostatna količina magnezija. Magnezij se izlučuje u stolici i mokraći (održavanje homeostaze magnezija). Promet i metabolizam magnezija povezan je s prometom kalcija i kalija. Hipomagnezijemija može uzrokovati hipokalcijemiju, a nerijetko je udružena s hipokalijemijom [158]. Nedostatak magnezija je povezan s poremećajem neuromuskularne podražljivosti (tetanija, konvulzije). Smanjenje brzine glomerulske filtracije (uremija) rezultira hipermagnezijemijom [159,43]. Hipermagnezijemija može imati nepoželjan utjecaj na koštanu pregradnju jer sprječava stvaranje kristala hidroksiapatita [3,7,16].

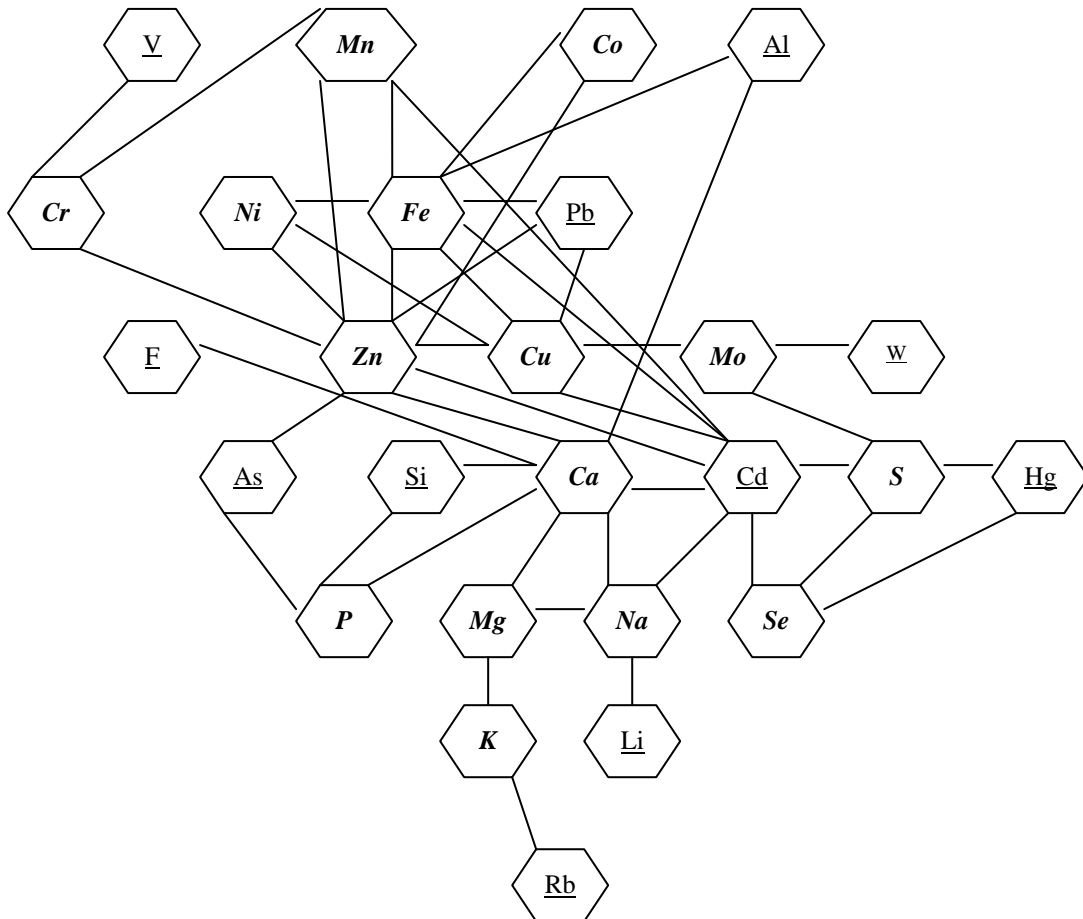
1.11.2. Elementi u tragovima / ultratragovima – esencijalnost i toksičnost

Elementi u (ultra)tragovima su nužni za rast, razvoj organizma, odnosno za potporu i odvijanje brojnih metaboličkih procesa. Prema njihovim biološkim učincima u tijelu, elemente u tragovima možemo podijeliti na esencijalne i neesencijalne. Esencijalni elementi u tragovima za sve organizme su: željezo, cink, mangan, bakar, fluor te jod, selen, kobalt, molibden, krom (III), stroncij, nikal i vanadij. Potencijalno esencijalni elementi u tragovima su: litij, berilij, aluminijski i silicij.

Nedostatan unos, poremećaj homeostaze, bolesti te mnogobrojna međudjelovanja toksičnih i/ili neesencijalnih elemenata s esencijalnim elementima mogu uzrokovati pomanjkanje esencijalnih elemenata u organizmu (sl. 1-9).

Mnogobrojni metali pokazuju toksične učinke u čovjeka pri povećanoj izloženosti: aluminijski, arsen, kadmij, krom, kobalt, bakar, željezo, olovo, mangan, živa, nikal, platina, selen, srebro i talij. Nefrotoksični elementi su: antimon, arsen, bizmut, kadmij, bakar, zlato, željezo, olovo, litij, živini spojevi, srebro, talij i uran. Različita stanja i bolesti često su popraćeni promjenama statusa pojedinih elemenata pa određivanje elemenata u tragovima

može ukazati na patofiziološke mehanizme koji su prethodili razvoju ili pogoršanju bolesti. Koncentracija elemenata u tragovima u serumu/plazmi ne odražava uvijek biološku raspoloživost pojedinih elemenata u tkivima, odnosno status elementa u organizmu [160-163].



Slika 1-9. Međudjelovanja neesencijalnih elemenata (podcrtano) i esencijalnih elemenata (podebljana/nakošena slova) Nadopunjeno i prerađeno; preuzeto iz izvornika: Thomas L, ur. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and assessment of clinical laboratory results [158].

Željezo

Uz prosječni dnevni unos željeza prehranom (12-18 mg) apsorbira se svega 1-2 mg željeza. U monocitno-makrofagnom sustavu dnevno se oslobodi 25-30 mg željeza pri razgradnji ostarjelih eritrocita što uglavnom podmiruje potrebe željeza za eritropoezu. Mješovitom prehranom se unosi 80-90% anorganskog željeza čija je biološka raspoloživost manja u usporedbi sa željezom u obliku hema. Transportni protein za hem **HCPI** omogućuje ulazak hema u enterocit [57,74,164].

Anorgansko trovalentno željezo se reducira u crijevima s askorbatom ili posredstvom ferireduktaze **Dcyt B**. Divalentni kation željeza s vodikovim ionom ulazi u enterocit

(simport) posredstvom transportnog proteina za dvovalentne katione *DMT1*. U sistemskom nedostatku željeza izrazito je povećan izražaj *Dcyt B*, *DMT1* i feroportina-1 (*FPN1*) na membrani enterocita. Osim dvovalentnog željeza, putem *DMT1* u stanice ulaze brojni dvovalentni kationi (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} i Pb^{2+}). Nedostatak željeza se odražava na povećanje apsorpcije drugih elemenata iz probavnog sustava. Trovalentno željezo se u manjoj količini apsorbira iz probavnog sustava posredstvom paraferitinskog transportnog sustava (b₃-intergrina i mobilferina).

Na vanjskoj strani bazolateralne membrane uz feroportin-1 smještena je feroksidaza *HEPH* koja katalizira oksidaciju dvovalentnog željeza u trovalentno željezo koje se potom veže na apotransferin. Na apotransferin se mogu vezati brojni drugi kationi: Al^{3+} , Ga^{3+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{3+} , Co^{3+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Sc^{2+} , Ni^{2+} , VO^{2+} te lantanoidi i aktinoidi. Željezo vezano na transferin ulazi u stanicu pinocitozom putem transferinskih receptora (*TfR1* i *TfR2*).

Unatoč činjenici da trovalentno željezo stvara kompleks s transferinom (veliki afinitet) ipak manje količine željeza u plazmi nisu vezane na transferin (ne-transferinsko željezo). Ne-transferinsko željezo u plazmi je vezano u niskomolekulske komplekse, ponajprije s citratom i acetatom (ternarni kompleks citrat-acetat-željezo), fosfatom, a ostatak ne-transferinskog željeza je vezan na peptide i proteine plazme, ponajprije na albumin te na *AMP-e/ATP-e* i fosfolipide [74,142,165-174].

Ne-transferinsko željezo ulazi u hepatocite posredstvom transportnog proteina za dvovalentne katione (*DMT1*) i transportnog proteina za cink (*ZIPI4*). U upali posredstvom *IL-6* povećava se izražaj *ZIPI4* na hepatocitima što posljedično doprinosi nakupljanju cinka u jetri uz popratnu hipocinkemiju. Ne-transferinsko željezo i cink se natječu za ulazak u hepatocit posredstvom *ZIPI4* [8,74,175-178]. U istraživanjima na štakorskoj jetri je opaženo da se ne-transferinsko željezo učinkovito uklanja već prvim prolaskom kroz jetru (>60%) u usporedbi s transferinskim željezom (<1%). Dvovalentni kationi mangana, kobalta, cinka i bakra reverzibilno sprječavaju ulazak dvovalentnog ne-transferinskog željeza u hepatocite, dok porast koncentracije kalcija pogoduje ulasku ne-transferinskog željeza u hepatocite [179].

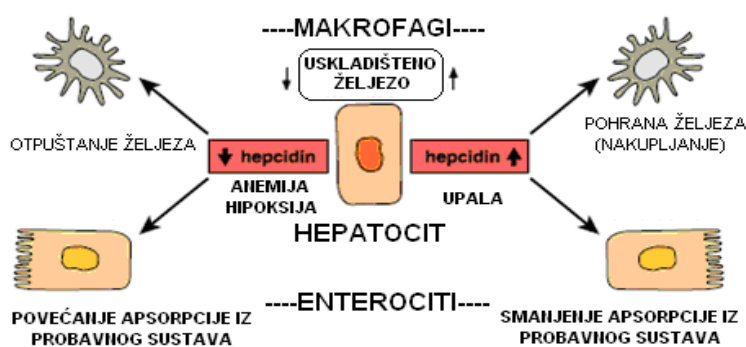
Feritin ima ključnu ulogu u pohrani željeza u organizmu. Feritin je oligomerni protein sastavljen od 24 podjedinice, a u jezgri feritina se može pohraniti do 4500 kationa željeza. Feritin je sastavljen od L-podjedinica (prevladava u jetri i slezeni; odgovorna za pohranu željeza; *lagana podjedinica*) i H-podjedinica (prevladava u srcu, bubrezima i mozgu; feroksidaza; *teška podjedinica*). U serumu prevladava glikozilirani feritin s visokim udjelom L-podjedinica, a povećanje koncentracije feritina s povećim udjelom H-podjedinica susreće se u zloćudnim bolestima [131,178]. H-podjedinica (dva funkcionalna kationa željeza) ima

feroksidaznu aktivnost, a L-podjedinica je odgovorna za popunjavanje jezgre feritina željezom. U jezgru feritina pohranjuje se trovalentno željezo stvoreno oksidacijom dvovalentnog željeza s kisikom pri čemu se stvara vodikov peroksid ili voda. Feritini s većim udjelom H-podjedinica oslobađaju veću količinu vodikovog peroksida tijekom feroksidacije što može rezultirati porastom oksidacijskog stresa [74,173].

Orkestrirana interakcija brojnih gena i proteina koji sudjeluju u metabolizmu željeza sudjeluje u održavanju homeostaze željeza, kako na staničnoj tako i na sistemsnoj razini. Ključni čimbenici koji utječu na sistemsku homeostazu željeza jesu:

- potrebe željeza za eritropoezu;
- količina pohranjenog željeza u organizmu;
- upala.

Sistemska homeostaza željeza je pod središnjim nadzorom hepcidina (antimikrobni peptidni hormon) koji se sintetizira u jetri u preopterećenju željezom i u upali. Sinteza hepcidina je smanjena u hipoksiji ili nedostatku željeza. Hepcidin slovi kao središnji negativni regulacijski čimbenik u apsorpciji željeza iz probavnog sustava te u otpuštanju željeza iz makrofaga (sl. 1-10).

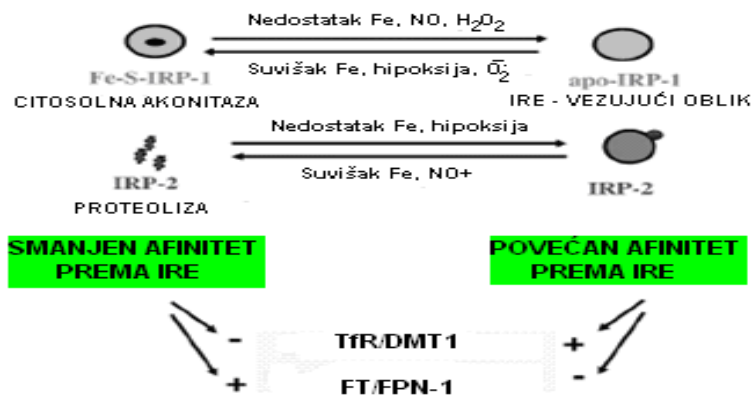


Slika 1-10. Mehanizam regulacije sinteze hepcidina i učinci hepcidina na metabolizam i promet željeza. Snižena koncentracija hepcidina u plazmi kao posljedica nedostatka pohranjenog željeza, povećanih potreba željeza za eritropoezu ili u hipoksiji pogoduje porastu apsorpcije i otpuštanju željeza iz makrofaga. Povišena koncentracija hepcidina u stanjima suviška željeza i u upali (*IL-6*) sprječava apsorpciju željeza iz probavnog sustava te sprječava otpuštanje pohranjenog željeza iz makrofaga u krvotok. Prerađeno i preuzeto iz izvornika: Toxicol Appl Pharmacol 2005;**202**:199-211 [180].

Hepcidin se veže na *FPN1* čime potiče internalizaciju i razgradnju *FPN1* što posljedično sprječava oslobađanje željeza iz enterocita ili makrofaga u krvotok [164,176,180]. Željezo (transferinsko i/ili ne-transferinsko željezo) smanjuje otpuštanje solubilnog hemojuvelina (*HJV*) u krvotok što potiče izražaj gena za hepcidin [74]. U upali se oslobađaju citokini iz makrofaga (*IL-6*, *IL-1*, *TNF-α*) koji također potiču stvaranje hepcidina u jetri. Stanice

monocitno-makrofagnog sustava izlučuju stanovite količine hepcidina pri prepoznavanju lipopolisaharida posredstvom receptora *TLR4*.

Metabolizam željeza na staničnoj razini reguliran je posttranskripcijskim nadzorom *mRNK* za transferinske receptore i feritin. Koncentracija citosolnog željeza regulirana je posredstvom dva citosolna proteina *IRP1/IRP2* (sl. 1-11). *IRP*-i ulaze u izravnu interakciju sa željezo-regulacijskim elementima *IRE* koji se nalaze u regulacijskoj petlji *mRNK*-a za proteine ključne u metabolizmu željeza, ali i neke druge proteine koji nisu izravno uključeni u metabolizam željeza [164,178,181,182]. Metabolizam *IRP1* povezan je s hipoksijom, biološkom raspoloživošću željeza i oksidacijskim stresom (*RKM/RDM*). *RKM/RDM* potiču interakciju između *IRE* i *IRP1*. Interakcija između *IRE* i *IRP1* je čvorišna točka između metabolizma željeza, oksigenacije, oksidacijskog stresa i upale [74,178,180,183,184].



Slika 1-11. Učinci reaktivnih kisikovih/dušikovih metabolita u upali na posttranskripcijsku regulaciju homeostaze željeza u stanici posredstvom *IRP*-ova. Afinitet vezanja *IRP1/IRP2* na regulacijsku petlju *mRNK* (*IRE*) za ključne proteine u metabolizmu željeza ovisi o brojnim čimbenicima. Prerađeno; preuzeto iz izvornika: Biochim Biophys Acta 2009;1790:682-693 [183].

Međudjelovanja željeza i drugih metala (cink, mangan, kobalt, aluminij, olovo i kadmij)

Neselektivnost u vezanju metalnih kationa na proteine koji sudjeluju u prijenosu kationa kroz membranu (*DMT1*) ili u prijenosu kationa u krvi (transferin, albumin) uzrokom su brojnih interakcija između željeza i drugih metala. Metalotionein, *HIF1*, *IRP*-e i drugi stanični proteini su čvorišne točke interakcije željeza s brojnim drugim metalima [74].

Opaženo je da kobalt i nikal i/ili keliranje željeza deferoksaminom (smanjena raspoloživost željeza) mogu pogodovati stvaranju eritropoetina posredstvom *HIF1* (djelovanje slično hipoksiji). Kobalt, nikal, mangan i bakar te nedostatak željeza inhibiraju prolin-hidroksilazu

što rezultira usporavanjem hidroksilacije i proteolitičke razgradnje *HIF1 α* podjedinice [74,185]. Vanadat, arsenit i krom mogu potaknuti izražaj gena za *HIF1 α* podjedinicu što posljedično može pridonijeti povećanju izražaja gena za eritropoetin neovisno o stupnju oksigenacije (hipoksija) [185]. Kronično otrovanje kadmijem usporava sintezu eritropoetina s obzirom da kadmij narušava stabilnost *HIF1 α* podjedinice [74,186,187].

Nadomjesno liječenje pripravcima željeza

Intarvenski pripravci željeza (posebice željezov glukonat) mogu rezultirati porastom razine oksidacijskog stresa uz posljedični porast koncentracije *MCP-1* u plazmi, bubrezima, jetri i slezeni pokusnih miševa. *MCP-1* potiče upalu koja doprinosi napredovanju bubrežnog oštećenja [188,189]. U intravenskim pripravcima željezo je vezano u ugljikohidratnom kompleksu („kavez“) koji osigurava sigurnu isporuku željeza do mjesta pohrane (makrofagi i hepatociti). Nakon intravenske primjene željezo iz ugljikohidratnih kompleksa ulazi u stanice monocitno-makrofagnog sustava, uz nezamjetno otpuštanje slobodnog željeza u krvotok.

U kroničnih bubrežnih bolesnika liječenih intravenskim pripravcima željeza opaža se porast koncentracije ne-transferinskog željeza i malondialdehida te prolazna proteinurija kao posljedica oštećenja bubrežnih kanalića zbog nefrotoksičnosti ne-transferinskog željeza (tab. 1-6). Intravenska primjena željeza može potaknuti prooksidacijske, citotoksične i proupalne učinke koji doprinose porastu smrtnosti od srčanožilnih bolesti [190-195].

Aluminij značajno narušava homeostazu željeza te pridonosi porastu slobodnog željeza u stanicama što rezultira porastom oksidacijskog stresa i stvaranjem *RKM*-a [74]. Ne-transferinsko željezo uzrokuje upalu i razvoj ateroskleroze što se očituje porastom smrtnosti u bolesnika liječenih hemodijalizom [191,196,197]. Ne-transferinsko željezo potiče rast i razmnožavanje brojnih bakterija te može prouzročiti poremećaj funkcije neutrofila [198,199]. U kroničnih bubrežnih bolesnika i bolesnika liječenih hemodijalizom porast koncentracije ne-transferinskog željeza se djelomično pripisuje hemolizi eritrocita tijekom postupka same hemodijalize i/ili smanjenju koncentracije transferina [200].

Primjena pripravaka željeza značajno utječe na smanjenje sadržaja bakra u hepatocitima i drugim tkivima, a povećava sadržaj željeza u brojnim tkivima [201].

Istodobna primjena askorbinske kiseline s intravenskim pripravcima željeza potiče otpuštanje i redukciju trovalentnog željeza iz ugljikohidratnog kompleksa što pogoduje porastu koncentracije ne-transferinskog željeza. U bolesnika liječenih hemodijalizom s porastom feritina izgledan je porast prooksidacijskih učinaka askorbata ($Asc^{\cdot-}$). Suvišak askorbata u odnosu na katione prijelaznih metala, primjerice $Fe^{2+}/Asc^{\cdot-}$ od 1:1 do 1:20,

područje stvaranju hidroksilnog radikala (Fentonova reakcija) što pridonosi peroksidaciji lipida ponajviše pri odnosu dvovalentnog i trovalentnog željeza (Fe^{2+}/Fe^{3+}) od 1:1 do 7:1 [127,202-204].

Istodobna primjena željeza s pripravcima eritropoetina utječe na smanjenje učinkovitosti eritropoetina jer eritropoetin stvara postojane komplekse s trovalentnim kationima željeza pa su izgledna oksidacijska oštećenja molekule eritropoetina posredovana željezom [127]. Nadalje, funkcionalni nedostatak željeza može uzrokovati smanjenje izražaja eritropoetinskih receptora što rezultira smanjenjem učinkovitosti eritropoetina [164].

U Hrvatskoj je uvriježena intravenska primjena Ferrlecita radi nadomjeska željeza u bolesnika liječenih hemodijalizom. Kod intravenske primjene Ferrlecita opažaju se brojni neželjeni učinci (preosjetljivost na sastavnice lijeka, poremećaji krvnog tlaka i srčane frekvencije, poremećaji disanja, mučnina, vrtoglavica, glavobolja, bolovi u zglobovima i mišićima, grčevi, slabost, crvenilo kože te brojni drugi neželjeni učinci). Ferrlecit je makromolekularni kompleks kemijske formule $[NaFe_2O_3(C_6H_{11}O_7)(C_{12}H_{22}O_{11})_5]_{\approx 200}$. Tijekom hemodijalize gubitak željezovog glukonata unesenog infuzijom iznosi manje od 1% [204,205]. Zbog učestalijih neželjenih popratnih učinaka primjena željezovog-dekstrana se ne preporučuje. Razvijeni su novi lijekovi s boljim svojstvima i rjeđim popratnim neželjenim učincima (ferumoksiteol), a u fazi ispitivanja su i brojni drugi lijekovi (željezov izomaltozid i željezo-karoksimaltoza) [205].

Tablica 1-6. Farmakološke osobitosti intravenskih pripravaka željeza. Prerađeno i nadopunjeno; preuzeto iz izvornika: Am J Hematol 2004;**76**:74-78 [204]

Farmakološki pokazatelji	željezo-dekstran	željezov saharat	željezov glukonat (Ferrlecit)
Prosječna molekulska masa (kDa)	165-267	350	289-440*
Biolška raspoloživost	+	++	++
Vrijeme polueliminacije (h)	6	5-6	1
Klirens uz intravensku primjenu 1000 mg	10-20 mg/h	nepoznato	nepoznato
Izlučivanje dijalizom	nezatno	nezatno	nezatno
Volumen distribucije (L)	nepoznato	7,9	6
Sigurnosni farmakološki profil	+	++	++
Anafilaksija/ hipersenzitivnost (%)	0,6-0,7	0,002	0,04
Pojedinačna doza	100	100	125
Maksimalna brzina intravenske primjene (mg/min)	50	20	12,5
Diluent; 0,9% NaCl (mL)	250-1000	100	100
Preporučena brzina intravenske primjene (h)	1-6	>¼	>1

Bakar

Bakar je sastavni dio brojnih metaloproteina koji sudjeluju oksido-redukcijskim reakcijama u kojima sudjeluje molekularni kisik. Bakar ima ključnu ulogu u metabolizmu željeza. Nedostatak bakra utječe na apsorpciju željeza što rezultira anemijom i neutropenijom. U nedostatku bakra je snižena katalitička aktivnost eritrocitne superoksid-dismutaze pa je izgledno nakupljanje **RKM**-a u eritrocitima uz posljedično smanjenje osmotske rezistencije eritrocita i popratni porast viskoznosti krvi te skraćanje vijeka eritrocita u krvnom optoku.

Bakar se apsorbira u dvanaesniku putem transportnog proteina za bakar **Ctrl** i **DMT1**. Bakar se apsorbira i posredstvom aminokiselina (metionina, histidina i cisteina). Suvišak bakra se veže na metalotionein u enterocitu što zapriječava ulazak bakra u krvotok [16,158,206]. Bakar u krvi je vezan na albumin, transkuprein i niskomolekulske komplekse (dihistidinski kompleks, male peptidne molekule) [16,59,207]. Ne-ceruloplazminski bakar vezan je uglavnom na albumin [208].

Ceruloplazmin je transportni protein za bakar s feroksidaznom aktivnošću pa ceruloplazmin potpomaže vezanje željeza na apotransferin. Za oksidaciju željeza u krvnom optoku dostatno je 1-2% bazalne feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina koja učinkovito sprječava spontanu oksidaciju dvovalentnog željeza i stvaranje **RKM**-a [209-211]. Ceruloplazmin je protein akutne faze koji se sintetizira u jetri pod nadzorom **IL-1** i **IL-6**, **TNF- α** , **IFN- γ** te lipopolisaharida i **HIF1** [8,187,212]. Sinteza ceruloplazmina i **TfR1** je pod nadzorom sustava **HIF1** koji predstavlja svojevrsnu poveznicu između metabolizma bakra i željeza. Porast koncentracije ceruloplazmina opaža se u anemiji, nedostatku željeza, krvarenju, bubrežnom oštećenju, u trudnoći i upali [178,181]. Porast omjera ceruloplazmina i transferina (**CP/TF**) je razmjernan stupnju oštećenja kod moždanog udara [213].

Ceruloplazmin olakšava ulazak ne-transferinskog željeza u stanicu paraferitinskim transportom za trovalentne katione [214,215].

U nedostatku bakra uz smanjenu aktivnost **SOD**-a opaženo je smanjenje aktivnosti **GPx**-a jer bakar sudjeluje u metabolizmu selenocisteina koji je nužan u sintezi **GPx**-a pa nedostatak bakra može potaknuti prooksidacijske učinke (porast oksidacije lipida, **DNK**-a i proteina) [125,215]. Poremećaji statusa bakra (nedostatak ili suvišak) pridonose porastu oksidacijskog stresa [207,215,216]. Odnos između bakra i cinka u serumu pozitivno je povezan s razinom oksidacijskog stresa i peroksidacijom lipida. Porast omjera bakra i cinka u serumu je povezan s razvojem i pogoršanjem degeneracijskih bolesti (reumatoidni artritis), srčanožilnih bolesti i ateroskleroze te s dobi [16,215,217].

Omjer feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina i koncentracije ceruloplazmina smatra se najpouzdanijim pokazateljem statusa bakra. Bakar se izlučuje u žuči, mokraći i znoju [159,160,210,218-220].

Cink

Prekomjerna uporaba nadomjesnih pripravaka cinka (>100 mg dnevno) može biti toksična. Prosječni dnevni unos cinka prehranom iznosi 15 mg (dnevne potrebe) od čega se u tankom crijevu apsorbira oko 20-30% unesenog cinka. Transmembranski transportni proteini za cink su: *ZIP14* i *DMTI* (apsorpcija cinka iz probavnog sustava).

Cink u krvi je vezan na proteine (65% na albumin, na α_2 -makroglobulin i transferin) te na aminokiseline. Cink je nužan za aktivnost i/ili stabilizaciju strukture mnogobrojnih biomolekula pa je značajan u:

- stabilizaciji strukture nukleinskih kiselina i regulaciji izražaja gena;
- očuvanju integriteta staničnih organela;
- transportnim procesima;
- imunosnom odgovoru i cijeljenju rana.

Cink ima antioksidacijsko djelovanje jer potiče sintezu metalotioneina te sprječava oksidaciju sulfhidrilnih skupina i stvaranje hidroksilnog radikala zbog antagonizma naspram željezu i bakru. Suvišak cinka utječe na status bakra i željeza. Cink se iz organizma izlučuje u stolici, mokraći i znoju [59,74,159,160,216,221].

Selen

Selen je esencijalni element nužan za biološku funkcionalnost selenoproteina (*GPx* i 5'-jodotironin-dejodinaze, tioredoksin-reduktaze te selenoproteina S i P). Selenat se apsorbira (u zamjenu s hidroksidnim ionom) posredstvom transportnog sustava za sulfate. Aminokiselinski selen (selenocistein i selenometionin) se apsorbira posredstvom transportnih sustava za pripadne aminokiseline. Selen u tkivima je uglavnom u obliku selenocisteina i selenometionina. Selen se izlučuje u mokraći (trimetilselenijev ion) i izdisajem (dimetil-selenid). Selen je nužan u obrani od oksidacijskog stresa i u metabolizmu hormona štitnjače. Kronični nedostatak selena se odražava na smanjenje katalitičke aktivnosti *GPx*-a u eritrocitima [158-160,216].

Kobalt

Kobalt se uglavnom apsorbira u obliku kobalamina. Kobalt je nužan za održavanje eritropoeze te u regulaciji imunosnog odgovora. Toksični učinci kobalta rijetko se susreću, ali

u bubrežnih bolesnika i u osoba koji konzumiraju velike količine piva može se razviti kardiomiopatija. Kobalt se nakuplja u jetri i bubrezima, a izlučuje se mokraćom [59,158,160,222].

Molibden

Molibden je esencijalni element nužan za katalitičku aktivnost brojnih metaloenzima. Iz probavnog sustava se apsorbira oko 85% unesenog molibdena. Molibden u krvi se veže na eritrocite i α_2 -makroglobulin. Suvišak molibdena se izlučuje u mokraći i žuči. Nedostatak molibdena rijetko se susreće u kliničkoj praksi. Koncentracija molibdena je povišena u jetrenim i bubrežnim bolestima [158-160,216,222].

Mangan

Iz probavnog sustava se apsorbira oko 5% unesenog mangana. U nedostatku željeza apsorpcija mangana se može utrostručiti. Divalentni i trovalentni kationi mangana su vezani u krvi na proteine (α_2 -makroglobulin, transferin i albumin). Mangan je sastavni dio metaloenzima i aktivator brojnih enzima. Nedostatak mangana je izgledan u pothranjenosti pa je često udružen sa sniženom koncentracijom kolesterola. Mangan se izlučuje putem žuči pa zastoj žuči može uzrokovati porast koncentracije mangana u krvi [158-160,216,223].

Krom

Prosječni dnevni unos kroma prehranom iznosi oko 200 μg od čega se apsorbira 2% unesenog kroma. Trovalentni krom u krvi se veže na transferin, dok šesterovalentni krom koji je toksičniji ulazi u eritrocite gdje se reducira u trovalentni krom. Krom ima značajnu ulogu u metabolizmu ugljikohidrata i lipida. Krom se izlučuje u mokraći, žuči i znoju [59,158-160,216].

Nikal

Nikal se unosi dišnim i probavnim sustavom te kroz kožu. Iz probavnog sustava apsorbira se oko 1-2% unesenog nikla. Nikal ulazi u stanicu posredstvom kalcijevih kanala pa nikal može uzrokovati poremećaj prometa kalcija kroz kalcijeve kanale što se odražava na porast koncentracije kalcija u stanici. Poremećaj homeostaze kalcija potiče izražaj gena koji nadziru stanični rast, diferencijaciju i apoptozu. Nikal u krvi je vezan na albumin i nikloplazmin. Bolesnici liječeni hemodijalizom mogu biti značajnije izloženi niklu [59,161]. Nikal se izlučuje u mokraći, stolici i znoju [59,158].

Aluminij

Prosječni dnevni unos aluminija prehranom u uobičajenim okolnostima iznosi oko 5-10 mg od čega se apsorbira neznatna količina unesenog aluminija. Aluminij je vezan u krvi na proteine (95% na transferin). Vezivanje aluminija na transferin pogoduje ulasku aluminija iz dijalizata u krvotok tijekom hemodijalize što rezultira nakupljanjem aluminija u koštanom i moždanom tkivu bolesnika liječenih hemodijalizom. Aluminij usporava eritropoezu i smanjuje učinkovitost eritropoetina u liječenju anemije. Aluminij inhibira feroksidaznu aktivnost ceruloplazmina pa utječe na metabolizam željeza. U koštanom tkivu aluminij može zamijeniti kalcij pa aluminij uzrokuje poremećaj prometa kalcija između krvotoka i koštanog tkiva. Aluminij se izlučuje u mokraći i žuči.

U preopterećenju aluminijem i u bubrežnih bolesnika koncentracija aluminija u serumu je često $>6 \mu\text{g/L}$. Nije izgledna pojava simptoma osteomalacije ili encefalopatije pri koncentraciji aluminija $<60 \mu\text{g/L}$ uz *PTH* $>5 \text{ nmol/L}$ (sekundarni hiperparatiroidizam smanjuje toksičnost aluminija). Osteomalacija i/ili encefalopatija je izgledna pri koncentraciji aluminija $>100 \mu\text{g/L}$ uz *PTH* $<5 \text{ nmol/L}$ [16,17,161].

Olovo

Prosječni dnevni unos olova prehranom iznosi oko 300 μg od čega se apsorbira 1-10% unesenog olova. Olovo se pohranjuje u kostima, jetri, bubrezima, kosi i eritrocitima. Dijagnostički osjetljiv, ali nespecifičan biokemijski pokazatelj izloženosti olovu jest katalitička aktivnost porfobilinogen-sintaze u eritrocitima, odnosno koncentracija eritrocitnog cink-protoporfirina kod povećane izloženosti olovu. Olovo inhibira koproporfobilinogen-dekarboksilazu u eritrocitima što posljedično pogoduje porastu izlučivanja δ -aminolevulinske kiseline i koproporfirina u mokraći kod izloženosti olovu. Zbog inhibicije aktivnosti ferokelataze usporava se ugradnja željeza u protoporfirin pa otrovanje olovom posljedično uzrokuje poremećaj sinteze hema što rezultira hipokromnom anemijom. Elektrofilna svojstva olova pogoduju stvaranju kovalentne veze između olova i cisteinskih sulfhidrilnih skupina u proteinima što može narušiti terciarnu strukturu proteina. Olovo se izlučuje u žuči i mokraći [158,160,161].

Kadmij

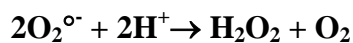
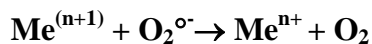
Dopušteni dnevni unos kadmija probavnim sustavom iznosi 50 μg od čega se apsorbira oko 5% unesenog kadmija. Prosječni dnevni unos kadmija dišnim sustavom iznosi 0,2 μg od čega se apsorbira 10-50% unesenog kadmija. Koncentracija kadmija u krvi pušača je

višestruko veća uslijed izloženosti kadmiju iz cigaretnog dima. Toksičnost kadmija klinički se očituje proteinurijom (proteini u mokraći >2 g/dU; povećan udio α_1mG i β_2mG).

Kod izloženosti kadmiju stvaraju se kadmij-proteinski adukti (denaturacija proteina), uglavnom na mjestu ulaska (alveolarni epitel) ili izlučivanja kadmija (epitel proksimalnih bubrežnih kanalića). Vrijeme polueliminacije kadmija u odraslih osoba iznosi 10-20 godina [59,158,160,161].

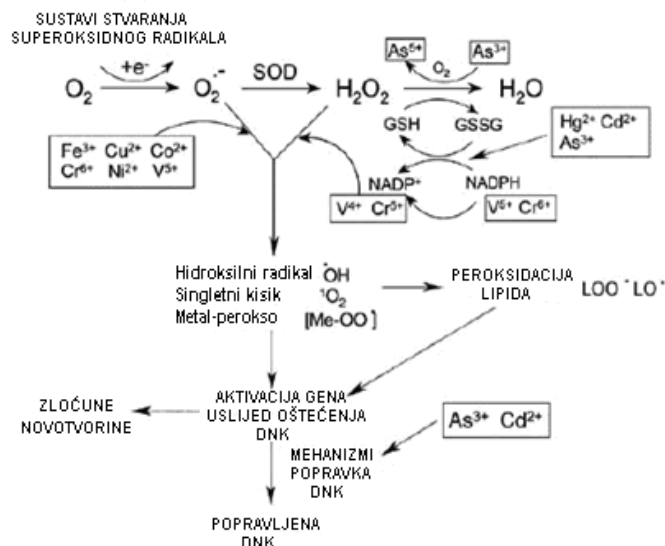
1.12. Čvorišne točke između elemenata u tragovima i oksidacijskog stresa

Metali su posrednici u stvaranju slobodnih radikala koji potiču oksidaciju nukleinskih kiselina, proteina i lipida, odnosno narušavaju homeostazu kalcija i sulfhidrilnih spojeva (sl. 1-12 i 1-13). Zajednički mehanizam stvaranja slobodnih radikala posredstvom redoks-aktivnih metala (željezo, bakar, krom, vanadij i kobalt) pripisuje se Fentonovoj reakciji:



Živa, kadmij i nikal su toksični s obzirom da mogu pridonijeti smanjenju koncentracije glutationa i vežu se na sulfhidrilne skupine u proteinima. Arsen se također može vezati na sulfhidrilne skupine pa može posredovati u stvaranju vodikovog peroksida. Povećano stvaranje *RKM/RDM* je uzrok štetnih učinaka (toksičnost i/ili kancerogenost) pobrojanih metala. Elementi u tragovima mogu aktivirati sustav transkripcijskih čimbenika ovisnih o oksido-redukcijskom staničnom potencijalu: *AP-1* (stanični rast i diferencijacija) i *NF- κ B* (upalni odgovor, stanični rast, diferencijacija, angiogeneza). Karcinogeni metali (kadmij, arsen i nikal) mogu uzrokovati poremećaj mehanizama prepoznavanja oštećenja *DNK* i popravaka *DNK*. Oksidacijska oštećenja *DNK* povezuju se s izloženošću brojnim metalima (sl. 1-12):

- nikal i krom (uzrokuju promjene u strukturi dušičnih baza);
- nikal, željezo i bakar udruženi s oksidansima (lomovi *DNK* lanaca);
- krom, bakar i nikal (depurinizacija) [59,224].



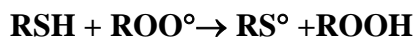
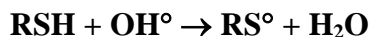
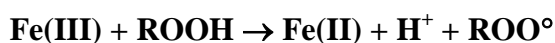
Slika 1-12. Ključne poveznice između oksidacijskog stresa, antioksidacijskog sustava obrane i elemenata u tragu. Prerađeno; preuzeto iz izvornika: Curr Med Chem 2005;**12**:1161-1208 [59].

Reakcije u kojima željezo može posredovati u stvaranju reaktivnih spojeva su mnogobrojne:

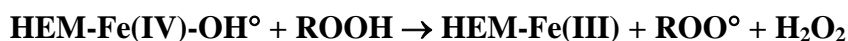
1. Stvaranje hidroksilnog radikala posredstvom anorganskog željeza – mehanizmom Fentonove reakcije (zbirno Haber-Weisove reakcije):



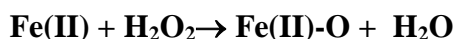
2. Stvaranje radikala organskih molekula posredstvom anorganskog željeza:

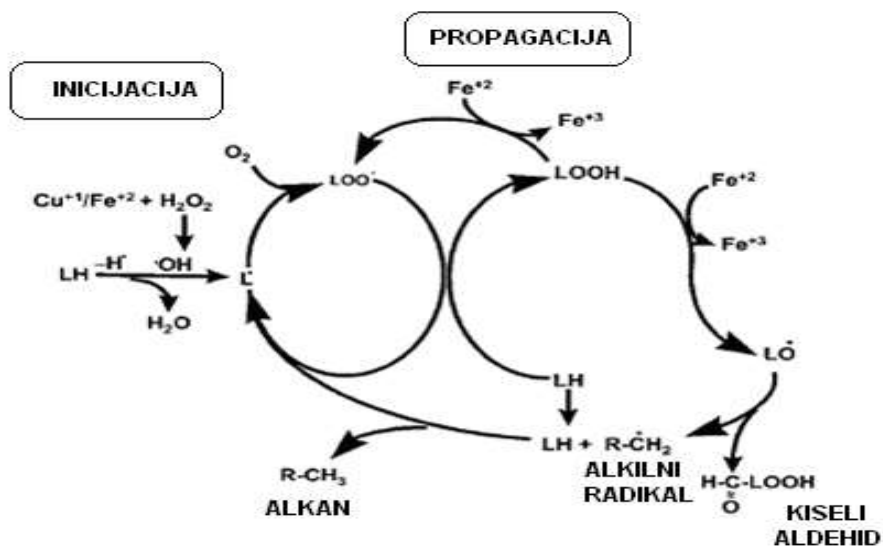


3. Stvaranje reaktivnih kisikovih metabolita posredstvom hemskeg željeza:



4. Izravna reakcija između željeza i kisika:





Slika 1-13. Shema peroksidacije lipida posredstvom kationa metala. Prerađeno; preuzeto iz izvornika: J Nutr 2000;**130** (5S Suppl.):1447-1454 [221].

LH-lipid; L[•]-lipidni radikal, LO[•]-alkoksilni radikal; LOO[•]-peroksilni radikal; LOOH-lipidni hidroperoksid.

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Poremećaj homeostaze elemenata u tragovima, ponajprije, ne-transferinskog željeza i ne-ceruloplazminskog bakra u bolesnika liječenih hemodijalizom je posljedica bubrežne bolesti, hemodijalize, nadomjesnog liječenja (željezo, eritropoetin i dr.), pothranjenosti, upale i anemije. Promjene statusa elemenata u tragovima se odražavaju na porast oksidacijskog stresa i pridruženi poremećaj sustava antioksidacijske obrane što rezultira razvojem brojnih komplikacija u bolesnika liječenih hemodijalizom (ateroskleroza, pogoršanje anemije, neučinkovitost antianemika, amiloidoza i dr.). Primjena antianemika može usporiti napredovanje bubrežnog oštećenja uz posljedično smanjenje rizika od srčanožilnih i moždanožilnih bolesti pa se nameću brojna pitanja:

1. Ima li kronična bubrežna bolest i/ili hemodijaliza značajne učinke na antioksidacijski i mineralni status? Koji su učinci upale, funkcionalnog nedostatka željeza i oksidacijskog stresa?
2. Imaju li dijalizne membrane značajni učinak na antioksidacijski i mineralni status?
3. Može li primjena Ferrlecita i eritropoetina promijeniti međuodnose između elemenata u tragovima te kako se te promjene očituju? Koji su dugoročni učinci primjene Ferrlecita i eritropoetina na antioksidacijski i mineralni status?
4. Koji su kratkoročni učinci primjene infuzije Ferrlecita na pokazatelje statusa bakra i željeza te na antioksidacijski status?
5. Postoji li povezanost između aktivnosti antioksidacijskih enzima u eritrocitima i statusa elemenata u tragovima u plazmi i eritrocitima?
6. Postoji li povezanost antioksidacijskog i mineralnog statusa s učinkovitošću antianemika?
7. Postoje li poveznice između ne-transferinskog željeza i ne-ceruloplazminskog bakra te statusa željeza i bakra, odnosno upale, oksidacijskog stresa, antioksidacijskog i mineralnog statusa, pothranjenosti i anemije u bolesnika liječenih hemodijalizom?
8. Imaju li opažene promjene kliničko značenje?

Na temelju navedenih pitanja su definirani specifični ciljevi ovog istraživanja:

1. Ispitati utjecaj hemodijalize i kronične bubrežne bolesti na aktivnost antioksidacijskih enzima u serumu: paraoksonaza (**PON**), Cu,Zn-superoksid-dismutaza (**SSOD**) i glutation-reduktaza (**SGRd**); odnosno u eritrocitima: Cu,Zn-superoksid-dismutaza (**ESOD**), glutation-peroksidaza (**EGPx**), glutation-reduktaza (**EGRd**) i glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza (**G6PD**).

2. Ispitati utjecaj hemodijalize i kronične bubrežne bolesti na status elemenata u tragovima (aluminij, krom, mangan, željezo, kobalt, nikal, bakar, cink, selen, molibden, kadmij i olovo) u plazmi i eritrocitima, odnosno u krvi.
3. Ispitati značajne dugoročne učinke intravenske primjene antianemika (Ferrlecit, Eprex i Recormon) te dijalizne membrane (celuloza-triacetatna i polisulfonska membrana) na mineralni i antioksidacijski status.
4. Usporediti pokazatelje antioksidacijskog i mineralnog statusa neposredno nakon intravenske primjene Ferrlecita uz dodatnu procjenu utjecaja dijaliznih membrana.
5. Ispitati povezanost aktivnosti antioksidacijskih enzima u eritrocitima s pokazateljima mineralnog statusa u plazmi i eritrocitima metodom postupne višestruke regresije uz korekciju međusobnog utjecaja.
6. Ispitati povezanost pokazatelja neučinkovitosti (rezistencije) antianemika u liječenju anemije s pokazateljima mineralnog statusa u plazmi i eritrocitima, odnosno s enzimskim i ne-enzimskim antioksidansima u plazmi i eritrocitima metodom postupne višestruke regresije uz korekciju međusobnog utjecaja.
7. Ispitati izravnu povezanost između oksidacijskog stresa, upale te lipidnog, antioksidacijskog i mineralnog statusa.
8. Ispitati i razmotriti kliničko značenje povezanosti specifične feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina s ne-transferinskim željezom i oksidacijskim stresom.
9. Na temelju rezultata istraživanja razmotriti kliničke preporuke koje mogu doprinijeti učinkovitosti liječenja i sprječavanju štetnih učinaka ne-transferinskog željeza i ne-ceruloplazminskog bakra, odnosno oksidacijskog stresa, upale i pothranjenosti u bolesnika liječenih hemodijalizom; primjerice, razmotriti opravdanost primjene nadomjeska selena, cinka ili bakra u bolesnika u kojih je utvrđen nedostatak elemenata u tragovima.

S obzirom na procjenu međuodnosa dvanaest elemenata u tragovima, procjenu međuodnosa ne-enzimskih i enzimskih antioksidansa u plazmi i eritrocitima s odabranim elementima u tragovima, rezultati ovog istraživanja predstavljaju originalni doprinos razjašnjenju složenih međuodnosa i izglednih međoutjecaja između antioksidacijskog i mineralnog statusa te oksidacijskog stresa, upale i nutritivnog statusa u bolesnika liječenih hemodijalizom. Rezultati ovog istraživanja trebali bi polučiti kliničke preporuke za učinkovito liječenje antianemicima kako bi se izbjegle opažene neželjene pojave pri liječenju te postigli željeni učinci u liječenju anemije i pridruženih bolesti.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

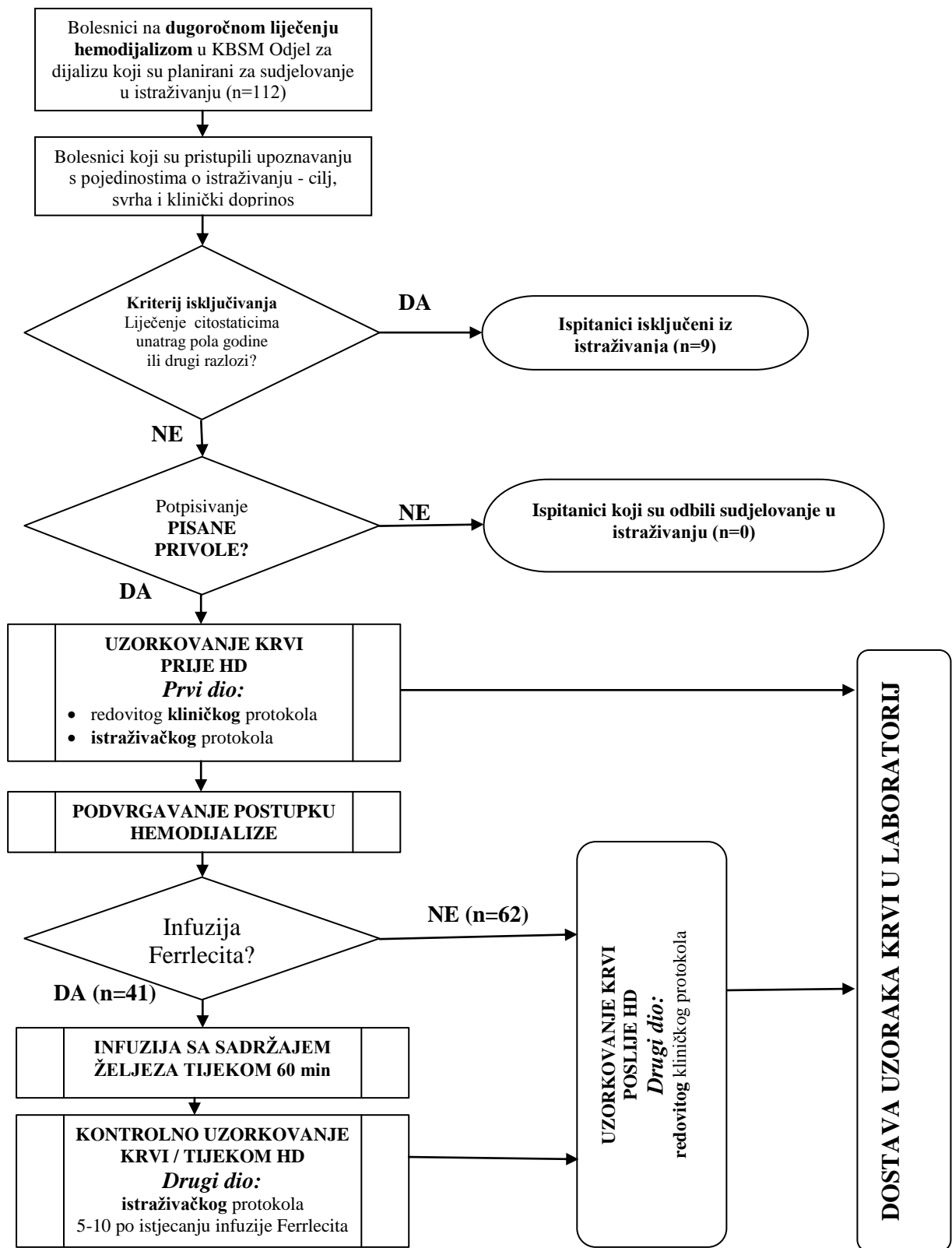
U Odjelu za hemodijalizu u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“ u razdoblju provedbe ovog istraživanja, od 22. travnja do 18. lipnja 2009. godine, bolesnici su dijalizirani uz uporabu celuloza-triacetatne membrane **CTM** (Baxter Helthcare Co., Deerfield, SAD) ili polisulfonske membrane **PSM** (Fresenius, Lexington, SAD). U istraživanje je uključeno 103 bolesnika liječenih hemodijalizom (80 dijalizirano sa **CTM** i 23 dijalizirano sa **PSM**; od kojih 68 muškaraca i 35 žena). Svi ispitanici detaljno su upoznati s ciljevima i svrhom istraživanja te su potpisali informirani pristanak. Ispitanici koji su potpisali informirani pristanak ujedno su odgovorili na pitanja iz Upitnika. Obrazac upitnika ispunio je liječnik prema prikupljenim odgovorima i dostupnoj zdravstvenoj dokumentaciji. Istraživanje je odobreno od Etičkog povjerenstva u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“ te Etičkog povjerenstva Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Iz istraživanja je isključeno 9 ispitanika s obzirom na kriterije isključenja (dijagnosticirana zloćudna bolest, primjena antineoplastika unatrag šest mjeseci, bolesnici koji su prebačeni na peritonejsku dijalizu, ispitanici koji su liječeni samo Ferrlecitom i koji su odbili potpisati informirani pristanak) pa je u istraživanje u konačnici uključeno 103 bolesnika liječenih hemodijalizom (80 dijalizirano sa **CTM**-om i 23 dijalizirano s **PSM**-om).

Od ukupno 103 bolesnika trinaest bolesnika nije primalo antianemike unatrag tri mjeseca. Devedeset bolesnika je primalo eritropoetin (70 dijalizirano sa **CTM**-om i 20 dijalizirano s **PSM**-om) od kojih je pedeset i dva ispitanika primalo **Recormon**[®] (Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, Njemačka) u infuziji, a trideset i osam bolesnika je primalo **Eprex**[®] (CILAG AG, Schaffhausen, Švicarska) u infuziji.

Od devedeset bolesnika koji su primali eritropoetin (Eprex ili Recormon), trideset i sedam bolesnika je primalo samo eritropoetin, dok je pedeset i tri bolesnika uz eritropoetin primalo intravenski pripravak željeza u infuziji **Ferrlecit**[®] (Aventis, Frankfurt na Majni, Njemačka) unatrag tri mjeseca (39 dijalizirano sa **CTM**-om i 14 dijalizirano s **PSM**-om). Od tih pedeset i tri bolesnika samo je četrdeset i jedan bolesnik primio Ferrlecit tijekom hemodijalize pa je tim bolesnicima drugo uzorkovanje krvi učinjeno 5-10 minuta po primitku infuzije Ferrlecita.

Prvi uzorak krvi je uzorkovan svim ispitanicima prije početka hemodijalize. U prvom uzorku učinjene su sve pretrage navedene u Prilogu, a u drugom uzorku učinjene su odabrane pretrage (posebno obilježene u Prilogu) kako bi se procijenili kratkoročni učinci

primjene Ferrlecita na status bakra i željeza te na antioksidacijski status. Po svršetku postupka hemodijalize krv je ponovno uzorkovana svim ispitanicima radi određivanja ureje nakon hemodijalize i izračuna pokazatelja učinkovitosti dijalize (tab. 4-1 i sl. 3-1).



Slika 3-1. Postupnik s ispitanicima (dijagram toka).

3.2. Prikupljanje, obrada i pohrana uzoraka

Krv je prikupljena u odgovarajuće spremnike s podtlakom (Becton-Dickinson and Company, Franklin Lakes, SAD):

1. uzorci krvi za određivanje hematoloških pretraga uzeti su u spremnike uz antikoagulans K₂EDTA (*Whole blood/Plasma tubes*);
2. uzorci krvi iz kojih je odijeljen serum za biokemijske pretrage uzeti su u spremnike sa separacijskim gelom (*Gel separation tubes*);
3. uzorci krvi za određivanje elemenata u tragovima uzeti su u spremnike s posebnim stupnjem čistoće na sadržaj metala uz antikoagulans K₂EDTA (*Trace element tubes*).

3.2.1. Odjeljivanje seruma i plazme

Uzorci krvi u BD Vacuteiner spremnicima za serum i plazmu centrifugirani su 10 minuta pri brzini vrtnje 4000 okretaja u minuti. Nakon centrifugiranja plazma ili serum su odijeljeni u Eppendorf spremnike (2 mL) i pohranjeni u ledenicu na -20°C za naknadnu analizu elemenata u tragovima i za specijalne biokemijske pretrage, a u ostatnom serumu nad gelom učinjene su rutinske biokemijske pretrage na dan uzorkovanja krvi.

3.2.2. Priprava hemolizata eritrocita

Nakon odjeljivanja 2 mL plazme za analizu elemenata u tragovima ostatak plazme u BD Vacuteiner spremnicima i površinski sloj stanica uklonjeni su sustavom za odsisavanje (vakuumskom sisaljkom). Na ostatni talog stanica je dodano 6 mL fiziološke otopine natrijevog klorida - *Baxter Saline 0.9% 500ml, Sodium Chloride, IV Bag Injection* (Baxter, Deerfield, SAD) nakon čega je sadržaj epruvete promiješan i ponovno centrifugiran 10 minuta pri brzini vrtnje 4000 okretaja u minuti. Nakon centrifugiranja nadsloj otopine s površinskim slojem stanica uklonjen je pomoću vakuumske sisaljke, a postupak izolacije eritrocita izotoničnom fiziološkom otopinom natrijevog klorida ponovljen je još dva puta. Nakon posljednjeg ispiranja eritrocita uklonjena je preostala otopina nad talogom eritrocita. Oprani eritrociti pohranjeni su u ledenicu na -80°C za određivanje antioksidacijskih enzima i elemenata u tragovima u eritrocitima. Na dan određivanja katalitičke aktivnosti antioksidacijskih enzima uzorci hemolizata su odmrznuti na sobnoj temperaturi te su promiješani na vibracijskoj miješalici nakon čega su centrifugirani 5 minuta pri brzini vrtnje 4000 okretaja u minuti.

3.3. Metode

3.3.1. Izračun antropometrijskih pokazatelja, procjena nedostatka željeza, odnosno kvantifikacija konzumacije alkoholnih pića

Antropometrijski pokazatelji: površina tijela (*PT*), indeks tjelesne mase (*BMI*), bazalne metaboličke energijske potrebe (*REE*), bazalne metaboličke energijske potrebe po kilogramu nemasne tjelesne mase (*REE/kg*), procijenjena masa ukupne vode u tijelu (*TBW*), procijenjena nemasna tjelesna masa (*LBM*), procijenjena masa visceralnih organa (*VOM*), masa visceralnih organa po kilogramu tjelesne mase (*VOM/kg*) izračunati su standardnim postupkom [8,29,225-228].

Potrebe za nadomjeskom željeza (*PoFe*) izračunate su s obzirom na koncentraciju hemoglobina (*Hb*) i tjelesnu masu bolesnika (*TM*) uz uporabu jednadžbe $PoFe = 0,3 \times (150 - Hb) \times TM$ [229], dok je kvantifikacija konzumacije alkoholnih pića procijenjena pomoću ekvivalenata alkoholnih pića (1 piće = 0,5L piva; 0,2 L vina; 0,033 L žestokog pića).

3.3.2. Određivanje hematoloških i biokemijskih pokazatelja

Rutinski klinički biokemijski pokazatelji (Prilog) određivani su standardnim optimiranim i verificiranim analitičkim metodama na biokemijskom analizatoru Olympus AU2700 (Olympus Co Ltd., Tokyo, Japan) u akreditiranom medicinsko-biokemijskom laboratoriju (prema Europskoj normi HRN EN ISO 15189) rabeći preporučene metode u suglasju s preporukama Hrvatske komore medicinskih biokemičara iz dokumenta o harmonizaciji analitičkih metoda: Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije [230] i Harmonizacija specijalističkih i visokodiferentnih pretraga iz područja medicinske biokemije, laboratorijske imunologije i analitičke toksikologije [231]. Kapilarna elektroforeza serumskih proteina učinjena je na analitičkom sustavu za kapilarnu elektroforezu proteina CAPILLARYS™ 2 (Sebia Inc., Norcross, SAD).

Katalitička aktivnost *SOD*-a, *GPx*-a, *GRd*-a, *G₆PD*-a [110,115,232] i *PON*-a [233], odnosno feroksidazna aktivnost ceruloplazmina (*CPa*) [234] te koncentracija ne-transferinskog željeza (*NTFe*) i proteinskih karbonila (*PK*) određivane su spektrofotometrijski uz prilagodbu predanalitičkog postupka, odnosno računalnog programa za različite vrste uzoraka, na biokemijskim analizatorima Olympus AU640 (Olympus Co Ltd., Tokyo, Japan) i Architect c8000 (Abbott Laboratories Ltd., Illinois, SAD). Koncentracija feritina određivana je kemiluminiscentnom metodom s magnetnim česticama na imunokemijskom analizatoru

Architect i2000_{SR} (Abbott Laboratories Ltd., Illinois, SAD) uz referentni interval preuzet iz literaturnog izvora [235].

Opći i specijalni hematološki pokazatelji (Prilog) određivani su iz uzorka pune krvi na hematološkom analizatoru Beckman Coulter LH-750 (Beckman Coulter Inc., Brea, SAD).

Elementi u tragovima (aluminij, krom, mangan, željezo, kobalt, nikal, bakar, cink, selen, molibden, kadmij i olovo) u krvnoj plazmi i eritrocitima određeni su metodom masene spektrometrije s induktivno spregnutom plazmom (engl: *Inductively coupled plasma mass spectrometry*; **ICP-MS**) na ICP-MS Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Waldbronn, Njemačka), odnosno koncentracija magnezija i bakra u serumu određena je metodom atomske apsorpcijske spektrofotometrije (engl. *Atomic absorption spectrometry*; **AAS**) na AAS SpectrAA-10 (Varian Inc., Zug, Švicarska).

3.3.3. Određivanje pokazatelja oksidacijskog stresa, antioksidacijskog sustava obrane te pokazatelja statusa elemenata u tragovima

Određivanje feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina

Feroksidazna aktivnost ceruloplazmina u serumu je određena spektrofotometrijskom metodom kinetičkog mjerenja. Kationi dvovalentnog željeza iz reakcijske smjese posredstvom ceruloplazmina se oksidiraju u trovalentno željezo. Ostatno dvovalentno željezo reagira s kromogenom (ferozinom) pa se oksidacijom dvovalentnog željeza u prisutnosti ceruloplazmina opaža pad apsorbancije pri valnoj duljini 700 nm koji je razmjernan feroksidaznoj aktivnosti ceruloplazmina. Oksidacija 1 $\mu\text{mol/min}$ dvovalentnog željeza odgovara jednoj jedinici feroksidazne katalitičke aktivnosti ceruloplazmina. Metoda i referentni intervali su preuzeti iz literaturnog izvora [234].

Određivanje katalitičke aktivnosti SOD-a (*SSOD_{uk}* i *ESOD*)

Katalitička aktivnost *SOD-a* u eritrocitima (*ESOD*) i serumu (ukupna aktivnost, *SSOD_{uk}*, kao i aktivnosti nakon inhibicije s KCN, *SSOD_{CN}*) određena je spektrofotometrijski, uporabom komercijalno dostupnog analitičkog reagensa **RANSOD** (*Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK*) uz provedbu kontrolnog postupka rabeći komercijalno dostupni kontrolni materijal **RANSOD Control** (*Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK*).

Superoksid-dismutaza je enzim koji katalizira reakciju disproporcioniranja superoksidnog radikala u kojoj se superoksidni radikal istodobno oksidira i reducira. Superoksidni radikal se stvara u reakcijskoj smjesi tijekom oksidacije ksantina u reakciji koju katalizira ksantin-oksidaza. Stvoreni superoksidni radikal (supstrat) je dostupan za redukciju kompleksnog spoja

INT-a (2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolijev klorid) ili za kompeticijsku reakciju disproporcioniranja kataliziranu *SOD*-om.

SOD iz uzorka posljedično usporava redukciju *INT*-a u crveno obojani spoj (formazon) pa je promjena apsorbancije pri valnoj duljini od 505 nm obrnuto razmjerna katalitičkoj aktivnosti *SOD*-a u uzorku. Jedinica katalitičke aktivnosti *SOD*-a predstavlja katalitičku aktivnost *SOD*-a kojom se postiže 50%-tna inhibicija redukcije *INT*-a u reakcijskoj smjesi. Referentni interval za katalitičku aktivnost *SOD*-a u eritrocitima je preuzet od proizvođača, dok je referentni interval za katalitičku aktivnost *SOD*-a u serumu preuzet iz literaturnog izvora [232].

Određivanje katalitičke aktivnosti *SSOD*_{CN} nakon inhibicije kalijevim cijanidom

Za određivanje katalitičke aktivnosti *SSOD*_{CN} u serumu (katalitička aktivnost superoksid-dismutaze rezistentne na inhibiciju cijanidom; *SOD* koja ne potječe od *Cu,Zn-SOD*) uzorak se prethodno podvrgava djelovanju inhibitora (kalijev cijanid). U 200 μL seruma doda se 10 μL 1M otopine kalijevog cijanida i snažno se promiješa (Merk, Darmstadt, Njemačka) te ostavi 60 minuta da odstoji na sobnoj temperaturi kako bi se postigla inhibicija *Cu,Zn-SOD*-a (*SSOD*) [99]. Biokemijski analizator za određivanje katalitičke aktivnosti superoksid-dismutaze u uzorcima seruma se kalibrira istim kalibratorima kao i za određivanje *SOD*-a u eritrocitima, međutim, uz odgovarajuću prilagodbu analitičkog programa na analizatoru. Katalitička aktivnost bakar, cink-superoksid-dismutaze u serumu (*SSOD*) izračuna se pomoću jednadžbe: $SSOD = SOD_{Uk} - SOD_{CN}$.

Određivanje katalitičke aktivnosti *GPx*-a

Metoda za određivanje katalitičke aktivnosti *GPx*-a u eritrocitima se temelji na redukciji kumenovog hidroperoksida posredstvom *GPx*-a iz uzorka uz istodobnu oksidaciju glutationa. Oksidirani glutation se reducira posredstvom *GRd*-a uz istodobnu oksidaciju koenzima *NADPH* u *NADP*⁺. Pad apsorbancije pri valnoj duljini 340 nm je razmjernan katalitičkoj aktivnosti *GPx*-a. Katalitička aktivnost *GPx*-a je određena spektrofotometrijskom metodom uporabom komercijalno dostupnog analitičkog reagensa *RANSEL* (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK) uz provedbu kontrolnog postupka rabeći komercijalno dostupni kontrolni materijal *RANSEL Control* (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK). Referentni interval je preuzet iz literaturnog izvora [236].

Određivanje katalitičke aktivnosti *GRd* -a

Metoda za određivanje katalitičke aktivnosti *GRd*-a se temelji na redukciji oksidiranog glutationa (*GSSG*) posredstvom *GRd*-a iz uzorka pri čemu se koenzim *NADPH* oksidira u *NADP⁺*. Pad apsorbancije pri valnoj duljini 340 nm je razmjernan katalitičkoj aktivnosti *GRd*-a. Katalitička aktivnost *GRd*-a je određena spektrofotometrijskom metodom uporabom komercijalno dostupnog analitičkog reagensa *Glutathione reductase* (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK) uz provedbu kontrolnog postupka rabeći komercijalno dostupni kontrolni materijal *Glutathion Reductase Control* (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK). Referentni interval je preuzet od proizvođača reagensa.

Određivanje katalitičke aktivnosti *G6PD*-a

Metoda za određivanje katalitičke aktivnosti *G6PD*-a se temelji na oksidaciji glukoza-6-fosfata posredstvom *G6PD*-a iz uzorka pri čemu se koenzim *NADP⁺* reducira u *NADPH*. Porast apsorbancije pri valnoj duljini 340 nm je razmjernan katalitičkoj aktivnosti *G6PD*-a. Katalitička aktivnost *G6PD*-a je određena je spektrofotometrijskom metodom uporabom komercijalno dostupnog analitičkog reagensa *G6PD* (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK) uz provedbu kontrolnog postupka rabeći komercijalno dostupni kontrolni materijal *G6PDH Control Normal* (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK). Referentni interval je preuzet od proizvođača reagensa.

Određivanje paraoksonazne aktivnosti *PONI*

PONI posreduje u katalitičkoj hidrolizi paraoksona pri čemu se stvara p-nitrofenol čija se koncentracija određuje spektrofotometrijski. Katalitička aktivnost *PONI* uz dodatak natrijevog klorida u reakcijsku smjesu predstavlja Na-stimuliranu katalitičku aktivnost *PONI* [110,115]. Katalitička aktivnost *PONI* je određena spektrofotometrijskom metodom uz uporabu priređenih reagensa sa sintetskim supstratom O,O-dietil-O-p-nitro-fenilfosfatom (*Sigma Chemical Co*, Aldriht, Njemačka). Izračun katalitičke aktivnosti *PONI* učinjen je s obzirom na poznatu vrijednost apsorpcijskog koeficijenta konačnog produkta (p-nitrofenola) pri valnoj duljini 410 nm. Metoda i referentni interval su preuzeti iz literaturnih izvora [110,115].

Određivanje koncentracije proteinskih karbonila

Koncentracija proteinskih karbonila u serumu (*PK*) određena je spektrofotometrijski uz uporabu 2,4-dinitrofenilhidrazina koji reagira s karbonilnim skupinama pri čemu se stvara obojani spoj (tab. 3-1). Oduzimanjem apsorbancije slijepe probe uzorka izračunava se

koncentracija proteinskih karbonila s obzirom na poznatu vrijednost apsorpcijskog koeficijenta obojanog produkta pri valnoj duljini 380 nm ($21 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$). Porast apsorpcije je razmjern koncentraciji proteinskih karbonila, a količina proteinskih karbonila se izražava u odnosu na količinu ukupnih proteina koja se određuje u istom uzorku. Metoda i referentni interval su preuzeti iz literaturnih izvora [233,237,238].

Priprava radnih otopina:

- 2 M **HCl**: klorovodična kiselina 30% (MERCK, Darmstadt, Njemačka);
- 20 mM **DNPH** / 2 M **HCl**: 2,4-dinitrofenilhidrazin (MERCK, Darmstadt, Njemačka);

uz postupno zagrijavanje u 2 M HCl se otopi odvaga 2,4-DNPH uz neprestano miješanje na magnetskoj miješalici. Nakon otapanja 2,4-DNPH otopina se filtrira preko filter papira. Otopina se čuva u tamnoj boci na sobnoj temperaturi.

- **TCA** 10% (w/v): trikloroctena kiselina (MERCK, Darmstadt, Njemačka); priredi se 10% otopina u redestiliranoj vodi.

- **EtOH/EtAc** 1:1 (v/v): apsolutni etanol/ etilni acetat za tekućinsku kromatografiju (MERCK, Darmstadt, Njemačka); pomiješaju se isti volumeni etilnog alkohola i etilnog acetata. Smjesa se pripravlja na dan analize.

- 20 mM **KH₂PO₄** (pH=2,3): odvaga kalijevog dihidrogenfosfata (Kemika, Zagreb, Hrvatska) se otopi u redestiliranoj vodi.

- 6 M **G×HCl** / 20 mM **KH₂PO₄**; gvanidinski hidroklorid (Serva, New York, SAD); u pripremljenoj otopini 20 mM **KH₂PO₄** otopi se odvaga gvanidinskog hidroklorida uz neprestano miješanje na magnetskoj miješalici.

Tablica 3-1. Postupak određivanja proteinskih karbonila

Sastavnica reakcijske smjese	Proba uzorka	Slijepa proba uzorka
Označiti epruvetice (Eppendorf epruvetice s konusnim dnom 1,5 mL) i pipetirati sastavnice reakcijske smjese prema redoslijedu.		
Redestilirana voda (μL)	500	500
UZORAK: serum (μL)	10	10
2 M HCl (μL)		200
20 mM DNPH /2 M HCl (μL)	200	
Stalak s epruveticama povremeno se protrese i drži na tamnom mjestu 60 minuta.		
TCA 10%(w/v) (μL)	500	500
Nakon dodavanja TCA sadržaj epruvetice se snažno protrese na vibracijskoj miješalici i potom istaloži centrifugiranjem 5 minuta na 11000×g . Nadsloj nad talogom se ukloni vakuumskom sisaljkom.		
Na zaostali talog se pipetira:		
EtOH/EtAc 1:1 (v/v) (μL)	1000	1000
Talog se razbije pomoću staklenog štapića i sadržaj epruvetice se snažno protrese na vibracijskoj miješalici te potom istaloži centrifugiranjem 5 minuta na 11000×g . Nadsloj nad talogom se ukloni vakuumskom sisaljkom. Postupak se ponovi tri puta.		
Na zaostali talog se pipetira:		
6 M G×HCl / 20 mM KH₂PO₄ (μL)	750	750
Pomoću staklenog štapića talog se razbije i daljnjim miješanjem (30 minuta na tamnom mjestu) talog se otopi. Epruvetice se potom centrifugiraju 5 minuta na 11 000×g.		
Sva mjerenja je potrebno je učiniti u triplikatu uz slijepu reagensu (6 M G×HCl / 20 mM KH₂PO₄) pri valnoj duljini 380 nm ($\epsilon=21 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$), a koncentracija proteinskih karbonila se izračunava oduzimanjem slijepe probe uzorka te se izražava na miligram proteina.		

EtOH – etanol; **EtAc** – etilni acetat; **DNPH** - 2,4-dinitrofenilhidrazin; **TCA** – trikloroctena kiselina; **HCl** – klorovodična kiselina; **KH₂PO₄** – kalijev dihidrogenfosfat; **G×HCl** – gvanidinski hidroklorid

Određivanje koncentracije ukupnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza

Spektrofotometrijsko određivanje ne-transferinskog željeza u serumu bolesnika liječenih intravenskim pripravcima željeza uz uporabu **UIBC** reagensa opisali su Seligman i suradnici [239,240].

Za određivanje koncentracije ne-transferinskog željeza (trovalentnog **NTFe(III)**) i ukupnog ne-transferinskog željeza **NTFe**) rabljen je reagens **IRON/UIBC** (*Randox Laboratories Ltd.*, Crumlin, UK) uz prilagodbu računalnog programa na biokemijskom analizatoru te kalibraciju s kalibratorom koji se isporučuje u pakiranju zajedno s reagensom. U reakcijskoj smjesi slobodno (ne-transferinsko) željezo reagira s kromogenom (ferenom), a porast apsorbancije pri valnoj duljini 600 nm je razmjernan koncentraciji ne-transferinskog željeza. Koncentracija

dvovalentnog ne-transferinskog željeza $NTFe(II)$ izračunava se uvrštavanjem izmjerenih koncentracija $NTFe$ i $NTFe(III)$ u matematičku jednadžbu $NTFe(II) = NTFe - NTFe(III)$.

Određivanje koncentracije elemenata u tragovima u plazmi i eritrocitima

Koncentracija elemenata u tragovima (aluminij, krom, mangan, željezo, kobalt, nikal, bakar, cink, selen, molibden, kadmij i olovo) u uzorcima plazme i eritrocita je određena metodom masene spektrometrije s induktivno spregnutom plazmom (**ICP-MS**) na analizatoru Agilent 7500cx s kolizijskom komorom (Agilent Technologies, Njemačka).

Uzorci plazme za analizu razrijeđeni su 20 puta, a uzorci eritrocita 50 puta s otopinom sljedećeg sastava: 0,7 mM amonijaka, 0,01 mM EDTA i 0,07% (v/v) Triton X-100 u ultračistoj vodi (18 MΩ cm; *Ultra Pure System GenPure*; TKA, Njemačka). Za kalibraciju je rabljena metoda adicije multielementnih radnih standarda u plazmu, odnosno u eritrocite. Radni standardi su pripremljeni u odgovarajućim razrjeđenjima pojedinačnih osnovnih standarda metala i polumetala (*PlasmaCAL*, *SCP Science*, Kanada). U svrhu provjere preciznosti i točnosti metode uporabljeni su referentni uzorci seruma i plazme *ClinChek Controls Level I i II* (*RECIPE Chemicals*, Njemačka) te uzorci seruma *SeronormTM Trace Elements Serum* (*Sero AS*, Norveška) s potvrđenim koncentracijama određivanih metala. Referentni intervali za elemente u tragovima su preuzeti iz dokumenta *SZO* [157].

3.4. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka je učinjena uz uporabu **Statistica version 7** (StatSoft Inc., Tulsa, SAD) računalnog programa. S obzirom na razdiobu i/ili osobitosti podataka rabljeni su parametrijske ili neparametrijske statističke analize za izračun i izražavanje rezultata. Razina značajnosti za prihvaćanje ili odbacivanje statističke hipoteze za sve rabljene statističke metode iznosi <0,05.

Opisni podaci za skupine i podskupine

Normalnost razdiobe podataka je ispitana Kolmogorov-Smirinoveljevim testom ($P < 0,05$ podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe). Opisni statistički parametri za podatke s normalnom razdiobom su prikazani kao srednja vrijednost i standardna devijacija, a opisni statistički parametri za podatke koji odstupaju od normalne razdiobe su prikazani kao medijan i interkvartilni raspon.

Usporedba između podskupina (nezavisni uzorci)

Statističkom metodom *ANOVA* (engl. *One-Way Analysis of Variance*; jednosmjerna *ANOVA*) ispitana je značajnost razlike varijabli između više od dvije podskupine, odnosno *post hoc* (sekundarnom) statističkom analizom ispitana je značajnost razlike između pojedinačnih podskupina. Za sekundarnu usporedbu između podskupina u kojih je opažena nehomogenost varijance Levenovim testom ($P < 0,05$) odabran je neparametrijski test (Newman-Keulsov test), odnosno u slučaju homogenosti varijance za usporedbu između podskupina odabran je parametrijski test (LSD Fisherov test).

Značajnost razlike ($P < 0,05$) varijabli između dviju podskupina ispitana je parametrijskim (t-test) ili neparametrijskim (Mann-Whitney U test) statističkim testom. Odabir mjerodavnog statističkog testa za ispitivanje razlike između skupina učinjen je s obzirom na normalnost razdiobe podataka (Kolmogorov-Smirnov test) i homogenost varijance (Leveneov test). Za podatke koji imaju normalnu razdiobu i homogenu varijancu ($P > 0,05$) učinjen je parametrijski t-test. Međutim, ako jedan od uvjeta nije ispunjen učinjen je neparametrijski Mann-Whitneyev U test.

Usporedba parnih podataka (zavisni uzorci)

Ispitana je značajnost razlike ($P < 0,05$) varijabli između prvog i drugog uzorkovanja parametrijskim (t-parni test) i neparametrijskim (Wilcoxonov parni test).

Statistička povezanost

Statistička povezanost između odabranih varijabli ispitana je izračunom Pearsonovog r_P (barem jedna varijabla ima normalnu raspodjelu podataka) ili Spearmanovog koeficijenta korelacije r_S (obje varijable značajno odstupaju od normalne razdiobe podataka).

Nadalje, višestruka povezanost ispitana je postupnom višestrukom regresijskom analizom. Metodom postupne višestruke regresijske analize ispitana je značajnost utjecaja i/ili međuutjecaja regresora (nezavisnih varijabli) u procjeni regresanda (zavisna varijabla). Odstupa li razdioba podataka značajno od normalne razdiobe izvorni podaci su logaritmirani kako bi podaci poprimili normalnu razdiobu.

4. REZULTATI

4.1. Opisni statistički pokazatelji za ispitivane parametre u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

U tablicama su prikazani opisni statistički pokazatelji za ispitivanu skupinu 103 bolesnika liječenih hemodijalizom (tab. 4-1 do 4-8). Usporedbom statističkih pokazatelja 103 bolesnika liječenih hemodijalizom i referentnih intervala [110,115,157,230-238] opaženi su značajni otkloni parametara koji su obilježeni strelicama (↑ povišeno; ↓ sniženo) (tab. 4-1 do 4-7).

Tablica 4-1. Opisni pokazatelji za skupinu 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Dob	Dob (g)	63,6 ± 12,0
Spol	Spol (m/ž)	68/35
Tjelesna masa	TM (kg)	71,1 ± 16,3
Površina tijela	PT (m ²)	1,85 ± 0,26
Indeks tjelesne mase	BMI (kg/m ²)	23,6 ± 4,0
Bazalne metaboličke energijske potrebe	REE (kJ)	6133 ± 1059
Bazalne metaboličke potrebe po kilogramu nemasne tjelesne mase	REE/kg (kJ)	120,2 ± 9,3
Procijenjena masa ukupne vode u tijelu	TBW (kg)	39,4 ± 7,6
Procijenjena nemasna tjelesna masa	LBM (kg)	51,4 ± 9,4
Procijenjena masa visceralnih organa	VOM (kg)	3,4 ± 0,4
Masa visceralnih organa po kg TM	VOM/kg	0,050 ± 0,007
Potrebe za nadomjeskom željeza	PoFe (mg)	901 ± 326
Navika aktivnog pušenja	AkP	16/103
Navika pasivnog pušenja	PaP	11/103
Konsumacija alkoholnih pića	KAP (piće)	0 (0 - 1,5)*
Razdoblje od dijagnoze bubrežnog zatajenja	RDBZ (g)	6 ± 4
Razdoblje od početka hemodijalize	RHD (g)	3 (1 - 7)*
Tjedno vrijeme podvrgavanja hemodijalizi	THD (h)	12 (12 - 12)*
Vrsta hemodijalizne membrane	MHD (CTM/PSM)	80/23
Primjena eritropoetina u liječenju anemije	EPO	90/103
Primjena Ferrlecita	FER	53/103
Isporučena doza HD (kinetika ureje)	KtV	1,12 ± 0,17
Isporučena doza HD (postotak sniženja ureje)	URR (%)	66,9 ± 5,7

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05); CTM - Celuloza-triacetatne membrane; PSM – polisulfonske membrane; HD – hemodijaliza.

Antropometrijski pokazatelji, primjerice ukupna masa vode u tijelu (*TBW*), nemasna tjelesna masa (*LBM*), odnosno indeks tjelesne mase (*BMI*) rabe se u procijeni općeg zdravstvenog stanja i uhranjenosti, procijeni rizika od razvoja komplikacija te u planiranju postupaka liječenja u bubrežnih bolesnika na hemodijalizi (tab. 4-1). U ispitivanoj skupini bolesnika je 13,5% pothranjenih bolesnika (*BMI* < 20 kg/m²).

Tablica 4-2. Biokemijski pokazatelji u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
α ₁ -mikroglobulin	α₁mG (mg/L)	↑ 340 ± 89
β ₂ -mikroglobulin	β₂mG (mg/L)	↑ 27,0 ± 8,9
Ureja	Ur (mmol/L)	↑ 22,0 ± 5,4
Kreatinin	Krea (μmol/L)	↑ 764 ± 206
Urati	Urat (μmol/L)	347 ± 64
Glukoza	Glu (mmol/L)	5,3 (4,7 – 6,5)
Hemoglobin A _{1c}	HbA_{1c} (%)	4,3 (3,9 – 4,8)
Ukupni bilirubin	Ubil (μmol/L)	9,2 (7,7 – 11,1)
Konjugirani bilirubin	Kbil (μmol/L)	1,2 (0,9 – 1,7)
Aspartat-aminotransferaza	AST (U/L)	14 (11 – 17)
Alanin-aminotransferaza	ALT (U/L)	12 (9 – 18)
Laktat-dehidrogenaza	LD (U/L)	171 (157 – 201)
Alkalna fosfataza	ALP (U/L)	73 (52 – 94)
γ-glutamilttransferaza	GGT (U/L)	24 (15 – 48)
Pseudokolinesteraza	KEs (U/L)	↓ 4746 ± 1098
Ukupni proteini	PRO (g/L)	67 ± 6
Albumin	ALB (g/L)	↓ 38 ± 4
Udio albumina u ukupnim serumskim proteinima	A (%)	↓ 56,9 (53,1 – 60,2)
Udio α ₁ -globulina u ukupnim serumskim proteinima	α1 (%)	↑ 4,9 ± 1,3
Udio α ₂ -globulina u ukupnim serumskim proteinima	α2 (%)	↑ 10,5 ± 2,1
Udio β-globulina u ukupnim serumskim proteinima	β (%)	10,5 ± 1,5
Udio γ-globulina u ukupnim serumskim proteinima	γ (%)	17,7 ± 4,6
Ukupni kalcij u serumu	SCa (mmol/L)	2,33 ± 0,16
Ukupni magnezij u serumu	SMg (mmol/L)	1,04 ± 0,17
Natrij u serumu	SNa (mmol/L)	137 ± 3
Kalij u serumu	SK (mmol/L)	↑ 5,5 ± 0,8
Kloridi u serumu	SCI (mmol/L)	103 ± 5
Anorganski fosfati u serumu	SP (mmol/L)	↑ 1,69 ± 0,44
Umnožak koncentracija kalcija i anorganskih fosfata	Ca×PO₄ (mmol ² /L ²)	4,0 ± 1,1

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05);

↓ - srednjak koncentracije je manji od donje granice referentnog intervala;

↑ - srednjak koncentracije je veći od gornje granice referentnog intervala.

Uz primjerenu učinkovitost hemodijalize ($URR > 65\%$) opažen je višestruki porast srednjaka koncentracija α_1mG , β_2mG , ureje i kreatinina (tab. 4-2). Nadalje, u ispitanika je povećana pojavnost: hipoalbuminemije (71,2%), hiperkalijemije (55,3%), hiperfosfatemije (75,7%), hipermagnezijemije (44,7%), hiperuricemije (28,1%) te hiponatrijemije (34,0%).

Tablica 4-3. Hematološki pokazatelji u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost \pm standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Leukociti	Lkc ($\times 10^9/L$)	6,2 (5,5 – 7,5)*
Udio neutrofila	Neut (%)	65,3 \pm 9,2
Udio limfocita	Limfo (%)	20,9 \pm 7,5
Udio monocita	Mono (%)	9,7 \pm 2,9
Udio eozinofila	Eoz (%)	2,7 (1,9 – 4,1)*
Udio bazofila	Bazo (%)	0,5 (0,3 – 0,7)*
Eritrociti	Erc ($\times 10^{12}/L$)	\downarrow 3,53 \pm 0,46
Hemoglobin	Hgb (g/L)	\downarrow 108 \pm 12
Hematokrit	Hct	\downarrow 0,332 \pm 0,036
Prosječni volumen eritrocita	MCV (fL)	94,3 \pm 6,0
Prosječna količina hemoglobina u eritrocita	MCH (pg)	30,7 \pm 2,2
Prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima	MCHC (g/L)	325 \pm 7
Raspodjela eritrocita po volumenu	RDW (%)	15,9 \pm 1,7
Udio retikulocita	Ret (%)	1,38 \pm 0,52
Prosječni volumen retikulocita	MRV (fL)	114,9 \pm 8,3
Indeks nezrelosti retikulocita	IRF	0,33 \pm 0,06
Prosječni sferoidni volumen eritrocita	MSCV (fL)	91,5 \pm 6,4
Udio retikulocita s visokim rasapom laserske svjetlosti	HLR (%)	0,43 (0,30 – 0,54)*
Udio hipokromnih eritrocita	LHCC (%)	\uparrow 10,5 (6,7 – 16,3)*
Trombociti	Trc ($\times 10^9/L$)	206 (164 – 261)*
Prosječni volumen trombocita	MPV (fL)	8,0 \pm 0,9
Raspodjela trombocita po volumenu	PDW (%)	16,7 (16,4 – 17,0)*
Omjer između sferoidnog i nativnog volumena eritrocita	MSCV/MCV	0,97 \pm 0,04

Tumač kratica koje su izravne izvedenice iz naziva na engleskom jeziku: **Hct**: Hematocrit; **MCV**: Mean Cell Volume; **MCH**: Mean Cell Hemoglobin; **MCHC**: Mean Cell Hemoglobin Concentration; **RDW**: Cell Distribution Width; **MRV**: Mean Reticulocyte Volume; **IRF**: Immature Reticulocyte Fraction; **MSCV**: Mean Sphered Cell volume; **HLR**%; High Light Scatter Reticulocyte ; **LHCC**%; Low Hemoglobin Concentration Cell Percentage; **MPV**: Mean Platelet Volume; **PDW**: Platelet Distribution Width

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, $P < 0,05$);

\downarrow - srednjak koncentracije je manji od donje granice referentnog intervala;

\uparrow - srednjak koncentracije je veći od gornje granice referentnog intervala.

Smanjene vrijednosti hematoloških pokazatelja (**Erc**, **Hgb**, **Hct**) upućuju na anemiju, a povećani udio hipokromnih eritrocita (**LHCC**) upućuje na funkcionalni nedostatak željeza u ispitanika (tab. 4-3).

Tablica 4-4. Pokazatelji statusa bakra i željeza u serumu u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Pokazatelji statusa bakra		
Bakar u serumu	SCu (μmol/L)	17,5 ± 3,7
Feroksidazna aktivnost ceruloplazmina	CPa (U/L)	469 ± 119
Ceruloplazmin	CPm (g/L)	0,261 ± 0,075
Omjer aktivnosti i koncentracije ceruloplazmina	SCP (U/g)	1823 ± 245
Ne-ceruloplazminski bakar u serumu	SCus (μmol/L)	5,2 ± 1,6
Omjer između bakra i ceruloplazmina	SCu/CPm (μmol/g)	68,4 ± 7,9
Pokazatelji statusa željeza		
Željezo u serumu	SFe (μmol/L)	↓ 10,7 ± 5,8
Nezasićeni kapacitet vezanja željeza	UIBC (μmol/L)	27,3 ± 9,4
Ukupni kapacitet vezanja željeza	TIBC (μmol/L)	38,0 ± 7,7
Feritin	FT (μg/L)	↑ 493 ± 326
Omjer između feritina i ukupnih proteina	FT/PRO (μg/g PRO)	7,39 ± 4,97
Transferin	TF (g/L)	1,78 ± 0,42
Zasićenje transferina željezom	TSAT (%)	21,0 ± (15,8 – 31,6)
Ukupno ne-transferinsko željezo	NTFe (μmol/L)	0,263 (0,119 – 0,351)*
Divalentno ne-transferinsko željezo	NTFe(II) (μmol/L)	0,155 (0,091 – 0,289)*
Trovalentno ne-transferinsko željezo	NTFe(III) (μmol/L)	0,001 (0,001 – 0,124)*
Omjer između divalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza	NTFe(II) NTFe(III)	77,0 (1,7 – 188,5)*
Omjer između ukupnog ne-transferinskog željeza i transferina	NTFe/TF (μmol/g TF)	0,149 (0,067 – 0,210)*

Tumač kratica koje su izravne izvedenice iz naziva na engleskom jeziku: *NTFe* izvedeno iz *NTBI* (Non-transferrin bound iron), *TIBC* (Total iron binding capacity); *UIBC* (Unsaturated iron binding capacity); *TSAT* (Transferrin saturation).

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, $P < 0,05$);

↓ - srednjak koncentracije je manji od donje granice referentnog intervala;

↑ - srednjak koncentracije je veći od gornje granice referentnog intervala.

U ispitanika je smanjena koncentracija željeza u serumu te povećana koncentracije feritina (tab. 4-4) u usporedbi s referentnim intervalima. Međutim, koncentracija feritina je unutar ciljnog intervala za bolesnike liječene hemodijalizom [71].

Tablica 4-5. Pokazatelji upale, lipidnog statusa i oksidacijskog stresa u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Pokazatelji upale		
C-reaktivni protein	CRP (mg/L)	↑ 5,4 (2,0 – 14,9)*
Imunoglobulin G	IgG (g/L)	12,6 ± 4,4
Imunoglobulin M	IgM (g/L)	0,62 (0,47 – 0,93)*
Pokazatelji lipidnog statusa		
Ukupni kolesterol	KOL (mmol/L)	4,2 ± 1,1
HDL-kolesterol	HDL (mmol/L)	1,2 ± 0,3
LDL-kolesterol	LDL (mmol/L)	2,4 ± 0,9
Trigliceridi	TG (mmol/L)	1,3 (1,0 -2,0)*
Omjer između LDL-kolesterola i HDL-kolesterola	LDL/HDL	2,12 ± 0,90
Omjer između ukupnog kolesterola i HDL-kolesterola	KOL/HDL	3,73 ± 1,04
Omjer između triglicerida i HDL-kolesterola	TG/HDL	1,22 (0,86 – 2,00)*
Ne-HDL-kolesterol	ne-HDL (mmol/L)	3,0 ± 1,0
Pokazatelj oksidacijskog stresa		
Proteinski karbonili na miligram proteina	PK (nmol/mg)	↑ 0,64 ± 0,32

Tumač kratica koje su izravne izvedenice iz naziva na engleskom jeziku: HDL: High-density lipoprotein cholesterol; LDL: Low-density lipoprotein cholesterol; ne-HDL: Non-HDL cholesterol; PK: protein carbonyl.

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05);

↓ - srednjak koncentracije je manji od donje granice referentnog intervala;

↑ - srednjak koncentracije je veći od gornje granice referentnog intervala.

U ispitanika je povećan udio α_1 -globulina i α_2 -globulina, smanjeni udio i koncentracija albumina te povišena koncentracija **CRP**-a (tab. 4-2 i 4-5).

Nije opažen značajan poremećaj pokazatelja lipidnog statusa (tab. 4-5), ali u 42,9% bolesnika je povećan omjer između triglicerida i **HDL**-kolesterola.

U ispitanika je snižena aktivnost pseudokolinesteraze te povišena koncentracija proteinskih karbonila u usporedbi s referentnim intervalima (tab. 4-2 i 4-5).

Tablica 4-6. Pokazatelji antioksidacijskih enzima u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Katalitička aktivnost antioksidacijskih enzima u serumu		
Bazalna aktivnost paraoksonaze	PONb (U/L)	↓ 126,0 (56,2 – 204,8)*
Natrijem stimulirana aktivnost paraoksonaze	PONa (U/L)	243,2 (110,7 – 393,7)*
Superoksid-dismutaza rezistentna na inhibiciju cijanidom	SSOD_{CN} (U/L)	24,0 ± 16,2
Cu,Zn-superoksid-dismutaza u serumu	SSOD (U/L)	52,7 ± 19,9
Glutation-reduktaza u serumu	SGRd (U/L)	50,9 (44,9 – 56,1)*
Omjer između SSOD i SGRd	SSOD/SGRd	1,04 ± 0,47
Katalitička aktivnost antioksidacijskih enzima u eritrocitima		
Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima	ESOD (U/g Hb)	1272 ± 227
Glutation-peroksidaza u eritrocitima	EGPx (U/g Hb)	80,7 ± 24,8
Glutation-reduktaza u eritrocitima	EGRd (U/g Hb)	12,7 ± 2,4
Glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza u eritrocitima	EG6PD (U/g Hb)	13,6 (10,1 – 16,8)*
Omjer između ESOD i EGPx	ESOD/EGPx	17,6 ± 7,6

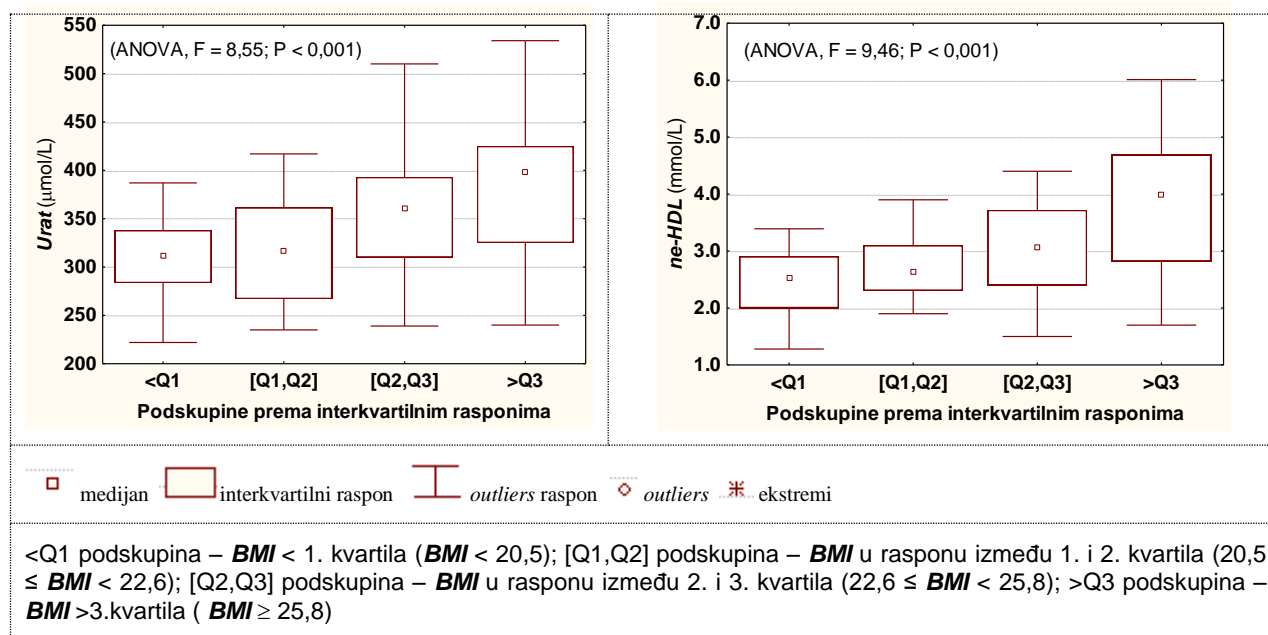
Katalitička aktivnost antioksidacijskih enzima u eritrocitima je izražena po gramu hemoglobina [U/g Hb] s obzirom da je hemoglobin najzastupljeniji protein u eritrocitima.

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, $P < 0,05$);

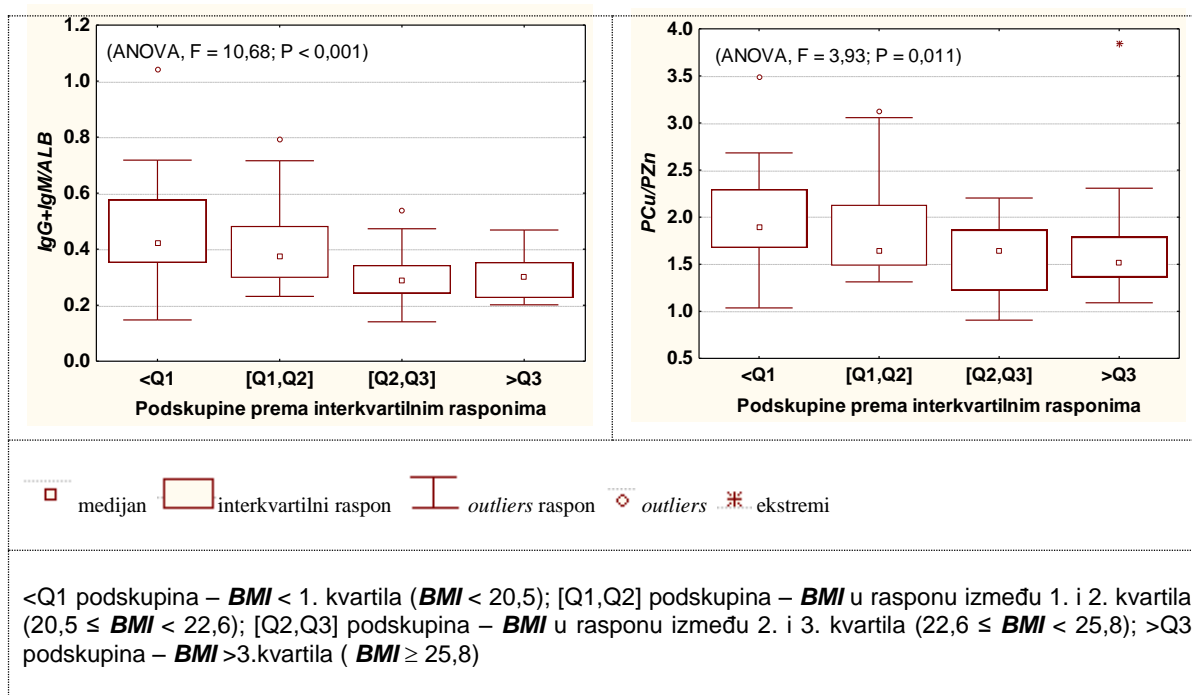
↓ - srednjak koncentracije je manji od donje granice referentnog intervala;

↑ - srednjak koncentracije je veći od gornje granice referentnog intervala.

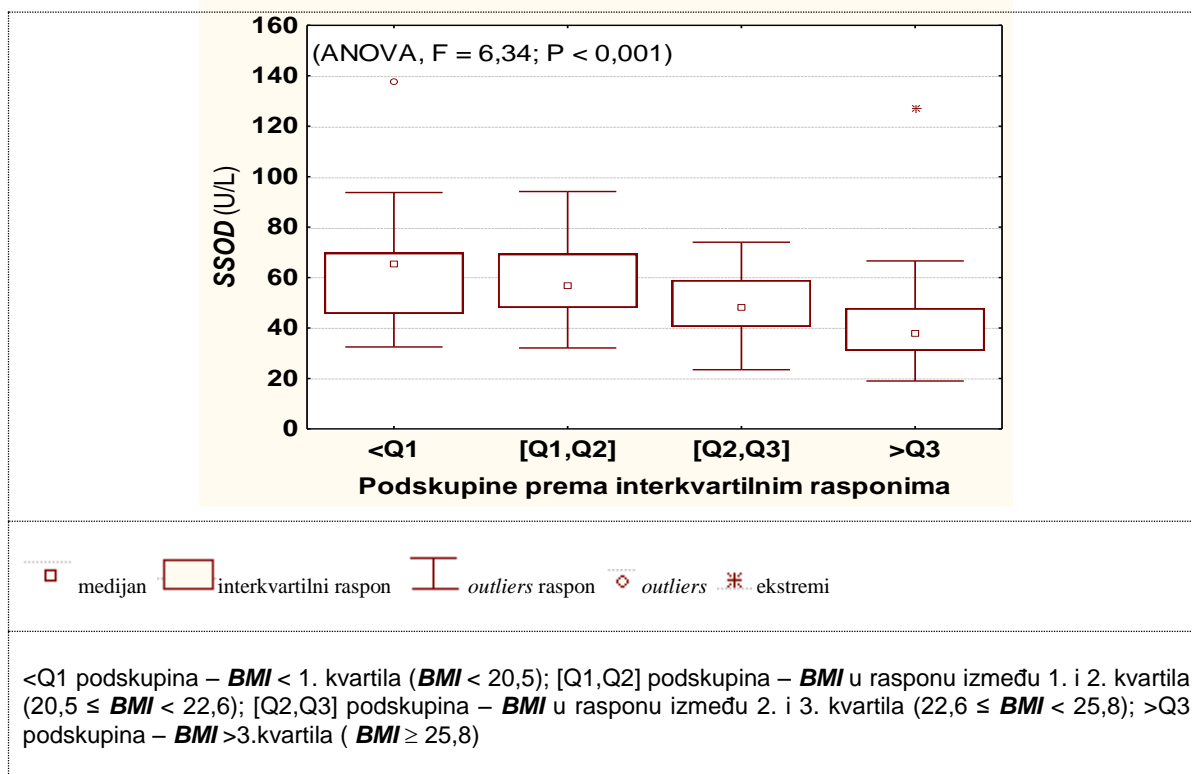
U ispitanika je snižena bazalna aktivnost **PONb**-a, a srednjaci aktivnosti **SSOD**-a, **SGRd**-a, **ESOD**-a, **EGPx**-a i **EGRd**-a i **EG6PD**-a su unutar granica referentnih intervala (tab. 4-6).



Slika 4-1.1. Pokazatelji nutritivnog statusa (mokraćna kiselina i **ne-HDL**-kolesterol) u podskupinama s obzirom na uhranjenost bolesnika.



Slika 4-1.2. Pokazatelji upale (*IgG+IgM/ALB*) i mineralnog statusa (*PCu/PZn*) u podskupinama s obzirom na uhranjenost bolesnika.



Slika 4-1.3. Aktivnost serumske Cu,Zn-superoksid-dismutaze (*SSOD*) u podskupinama s obzirom na uhranjenost bolesnika.

U pothranjenih i granično pothranjenih bolesnika (<Q1 podskupina) u usporedbi s ostalim ispitivanim podskupinama je opaženo: smanjenje koncentracije urata i *ne-HDL*-kolesterola,

odnosno porast omjera (*IgG+IgM*)/*ALB* i *PCu/PZn* te porast aktivnosti *SSOD* (sl. 4-1.1 do 4-1.3).

Tablica 4-7. Pokazatelji statusa elemenata u tragovima u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

naziv varijable	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Pokazatelji statusa elemenata u tragovima u plazmi		
Koncentracija aluminija u plazmi	<i>PAI</i> (μmol/L)	0,154 (0,100 – 0,214)*
Koncentracija kroma u plazmi	<i>PCr</i> (μmol/L)	↑ 0,0706 ± 0,0206
Koncentracija mangana u plazmi	<i>PMn</i> (μmol/L)	↓ 0,00790 (0,00682 – 0,00887)*
Koncentracija željeza u plazmi	<i>PFe</i> (μmol/L)	17,4 ± 5,8
Koncentracija kobalta u plazmi	<i>PCo</i> (μmol/L)	↑ 0,00577 (0,00467 – 0,00751)*
Koncentracija nikla u plazmi	<i>PNi</i> (μmol/L)	↑ 0,0474 ± 0,0156
Koncentracija bakra u plazmi	<i>PCu</i> (μmol/L)	16,0 ± 3,5
Koncentracija cinka u plazmi	<i>PZn</i> (μmol/L)	↓ 9,5 ± 1,3
Koncentracija selena u plazmi	<i>PSe</i> (μmol/L)	↓ 0,84 ± 0,21
Koncentracija molibdena u plazmi	<i>PMo</i> (μmol/L)	↑ 0,0439 ± 0,0273
Koncentracija kadmija u plazmi	<i>PCd</i> (μmol/L)	↓ 0,00065 (0,00041 – 0,00109)*
Koncentracija olova u plazmi	<i>PPb</i> (μmol/L)	↑ 0,00591 (0,00420 – 0,01008)*
Količinski omjer bakra i cinka u plazmi	<i>PCu/PZn</i>	1,73 ± 0,51
Pokazatelji statusa elemenata u tragovima u eritrocitima		
Koncentracija aluminija u eritrocitima	<i>ErAl</i> (μmol/L)	0,275 (0,146 – 0,448)*
Koncentracija kroma u eritrocitima	<i>ErCr</i> (μmol/L)	0,0874 ± 0,0142
Koncentracija mangana u eritrocitima	<i>ErMn</i> (μmol/L)	0,405 ± 0,151
Koncentracija željeza u eritrocitima	<i>ErFe</i> (mmol/L)	16,9 ± 2,4
Koncentracija kobalta u eritrocitima	<i>ErCo</i> (μmol/L)	0,00261 (0,00195 – 0,00335)*
Koncentracija nikla u eritrocitima	<i>ErNi</i> (μmol/L)	0,0214 (0,0154 – 0,0273)*
Koncentracija bakra u eritrocitima	<i>ErCu</i> (μmol/L)	6,8 ± 1,4
Koncentracija cinka u eritrocitima	<i>ErZn</i> (μmol/L)	191,4 ± 29,5
Koncentracija selena u eritrocitima	<i>ErSe</i> (μmol/L)	1,37 (1,18 – 1,57)*
Koncentracija molibdena u eritrocitima	<i>ErMo</i> (μmol/L)	0,0123 (0,0085 – 0,0162)*
Koncentracija kadmija u eritrocitima	<i>ErCd</i> (μmol/L)	0,01365 (0,00929 – 0,02158)*
Koncentracija olova u eritrocitima	<i>ErPb</i> (μmol/L)	0,711 ± 0,290
Količinski omjer bakra i cinka u eritrocitima	<i>ErCu/ErZn</i>	0,0355 ± 0,0057
Pokazatelji statusa elemenata u tragovima u krvi		
Koncentracija aluminija u krvi	<i>KAl</i> (μmol/L)	0,256 (0,147 -0,400)*
Koncentracija kroma u krvi	<i>KCr</i> (μmol/L)	0,0918 ± 0,0180
Koncentracija mangana u krvi	<i>KMn</i> (μmol/L)	0,215 ± 0,092
Koncentracija željeza u krvi	<i>KFe</i> (mmol/L)	8,7 ± 2,0
Koncentracija kobalta u krvi	<i>KCo</i> (μmol/L)	↓ 0,00527 (0,00423 – 0,00677)*
Koncentracija nikla u krvi	<i>KNi</i> (μmol/L)	0,0431 (0,0350 – 0,0512)*
Koncentracija bakra u krvi	<i>KCu</i> (μmol/L)	14,2 ± 2,7
Koncentracija cinka u krvi	<i>KZn</i> (μmol/L)	104,2 ± 22,2
Koncentracija selena u krvi	<i>KSe</i> (μmol/L)	1,30 ± 0,35
Koncentracija molibdena u krvi	<i>KMo</i> (μmol/L)	↑ 0,0324 (0,0237 – 0,0447)*
Koncentracija kadmija u krvi	<i>KCd</i> (μmol/L)	0,00721 (0,00495 – 0,01213)*
Koncentracija olova u krvi	<i>KPb</i> (μmol/L)	0,349 (0,256 – 0,437)*
Količinski omjer bakra i cinka u krvi	<i>KCu/KZn</i>	0,134 (0,116 – 0,166)*

Koncentracija elemenata u tragovima u plazmi obilježena je predmetkom „*P*“ ispred kemijskog simbola elementa; koncentracija elemenata u tragovima u eritrocitima obilježena je predmetkom „*Er*“ ispred kemijskog simbola elementa; koncentracija elemenata u tragovima u krvi obilježena je predmetkom „*K*“ ispred kemijskog simbola elementa.

Oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, $P < 0,05$);

↓ - srednjak koncentracije je manji od donje granice referentnog intervala;

↑ - srednjak koncentracije je veći od gornje granice referentnog intervala.

U ispitanika je povišena koncentracija kroma, kobalta, nikla i olova u plazmi te molibdena u plazmi i krvi; odnosno, smanjena koncentracija mangana, cinka, selena i kadmija u plazmi te kobalta u krvi u usporedbi s referentnim intervalima [157].

Tablica 4-8. Tjedne doze antianemika i pokazatelji rezistencije na liječenje anemije antianemicima

naziv varijable	Broj ispitanika	kratica (jedinica)	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*
Tjedne doze antianemika			
Tjedna doza Ferrlecita po kg TM	53	DzFer mg(Fer)/kg	0,839 (0,504 – 1,008)*
Tjedana doza Recormona po kg TM	52	DzRec IU(Rec)/kg	83,7 ± 51,4
Tjedna doza Eprexa po kg TM	38	DzEpr IU(Epr)/kg	91,6 ± 79,8
Pokazatelji neučinkovitosti antianaemika u liječenju anemije			
Pokazatelj rezistencije na Ferrlecit	53	RzFer (mg/kg/gL ⁻¹ Hb)	0,00912 ± 0,00712
Pokazatelj rezistencije na Recormon	52	RzRec (IU/kg/gL ⁻¹ Hb)	0,734 ± 0,501
Pokazatelj rezistencije na Eprex	38	RzEpr (IU/kg/gL ⁻¹ Hb)	0,871 ± 0,735

TM: tjelesna masa; oznaka „*“ - podaci značajno odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05). Tumač kratica koje su izravne izvedenice iz naziva na engleskom jeziku: **Rz**: *ERI*, *erythropoietin resistance index*.

Nije opažena klinički značajna neučinkovitost u liječenju anemije eritropoetinom budući da su tjedne doze eritropoetina iznosile < 450 IU/kg [70]. S obzirom na preporučenu vrijednosti (<1,5 mg/kg/gL⁻¹ Hb) pokazatelja rezistencije za eritropoetin [241] smanjena učinkovitost eritropoetina je nađena u 9 ispitanika (šest bolesnika liječenih Eprexom i tri bolesnika liječena Recormonom) što je u skladu s očekivanjima budući da se neučinkovitost eritropoetina susreće u oko 10% kroničnih bubrežnih bolesnika [242].

4.2. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika s obzirom na vrstu dijalizne membrane

S obzirom na uporabljenu vrstu dijalizne membrane učinjeno je raščlanjivanje skupina bolesnika kako bi se ispitali učinci dijalizne membrane (celuloza-triacetatna i polisulfonska membrana) na antioksidacijski i mineralni status u bolesnika liječenih hemodijalizom:

- 1) 80 ispitanika koji su dijalizirani uz uporabu celuloza-triacetatne membrane (**CTM**);
- 2) 23 ispitanika koji su dijalizirani uz uporabu polisulfonske membrane (**PSM**).

Tablica 4-9. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika dijaliziranih uz uporabu celuloza-triacetatne (**CTM**) i polisulfonske dijalizne membrane (**PSM**) u hemodijalizatorima

pokazatelji	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*		P
	CTM	PSM	
Pokazatelj učinkovitosti membrane u uklanjanju molekula srednjemolekulske mase			
β_2mG (mg/L)	↑ 28,7 ± 8,8	21,2 ± 6,4	<0,001 ^{MW}
Pokazatelj nutritivnog statusa i oksidacijskog stresa			
KEs (U/L)	↓ 4543 ± 993	5452 ± 1176	<0,001 ^{tT}
Antioksidacijski enzim u eritrocitima			
ESOD (U/g Hb)	≈1271 ± 238	1275 ± 189	>0,90 ^{tT}
Pokazatelji metabolizma kalcija i fosfata			
SP (mmol/L)	↓ 1,63 ± 0,42	1,93 ± 0,43	0,003 ^{tT}
Ca×PO₄ (mmol ² /L ²)	↓ 3,8 ± 1,1	4,5 ± 1,0	0,007 ^{tT}
ALP (U/L)	↑ 75 (60 – 98)	64 ± 28	0,008 ^{MW}
Pokazatelji statusa željeza, kroma, kadmija i selena			
FT (μg/L)	↑529 ± 338	365 ± 250	0,032 ^{tT}
TF (g/L)	↓ 1,72 ± 0,42	1,98 ± 0,40	0,009 ^{tT}
PCr (μmol/L)	↓ 0,0681 ± 0,0186	0,0791 ± 0,0250	0,023 ^{tT}
PCd (10 ⁻³ ×μmol/L)	↑ 0,781 (0,436 – 1,159)*	0,682 ± 0,552	0,033 ^{MW}
ErSe (μmol/L)	↓ 1,34 (1,16 – 1,51)*	1,59 ± 0,39	0,011 ^{MW}

Oznaka „**“ - podaci odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05);

MW - Mann Whitneyev U test; tT – t-test; ↓ - smanjena vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine; ↑ - povećana vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine, ≈ nije nađena značajna razlika spram usporedbene skupine.

β_2mG - β_2 -mikroglobulin; **KEs** – pseudokolinesteraza; **ESOD** – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima; **SP** – anorganski fosfati u serumu; **Ca×PO₄** – umnožak koncentracija kalcija i anorganskih fosfata; **ALP** – alkalna fosfataza; **FT** – feritin; **TF** – transferin; **PCr** – koncentracija kroma u plazmi; **PCd** – koncentracija kadmija u plazmi; **ErSe** – koncentracija selena u eritrocitima.

U ispitanika koji su dijalizirani uz uporabu celuloza-triacetatne membrane opažene su (tab. 4-9): smanjena učinkovitost uklanjanja molekula srednjemolekulskih masa (porast koncentracije β_2 -mikroglobulina), smanjena aktivnost pseudokolinesteraze, odnosno promjene u metabolizmu kalcija i fosfata te promjene statusa elemenata u tragovima (smanjenje

koncentracije kroma u plazmi i selena u eritrocitima te porast koncentracije kadmija u eritrocitima). Nadalje, u ispitanika koji su dijalizirani uz uporabu *CTM*-a je opažena povećana koncentracija feritina i smanjena koncentracija transferina što može biti posljedica upale.

4.3. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika s obzirom na primjenu antianemika (eritropoetina i Ferrlecita)

S obzirom na liječenje antianemicima učinjeno je raščlanjivanje podskupina bolesnika kako bi se ispitali učinci primjene eritropoetina i/ili Ferrlecita na antioksidacijski i mineralni status u bolesnika liječenih hemodijalizom:

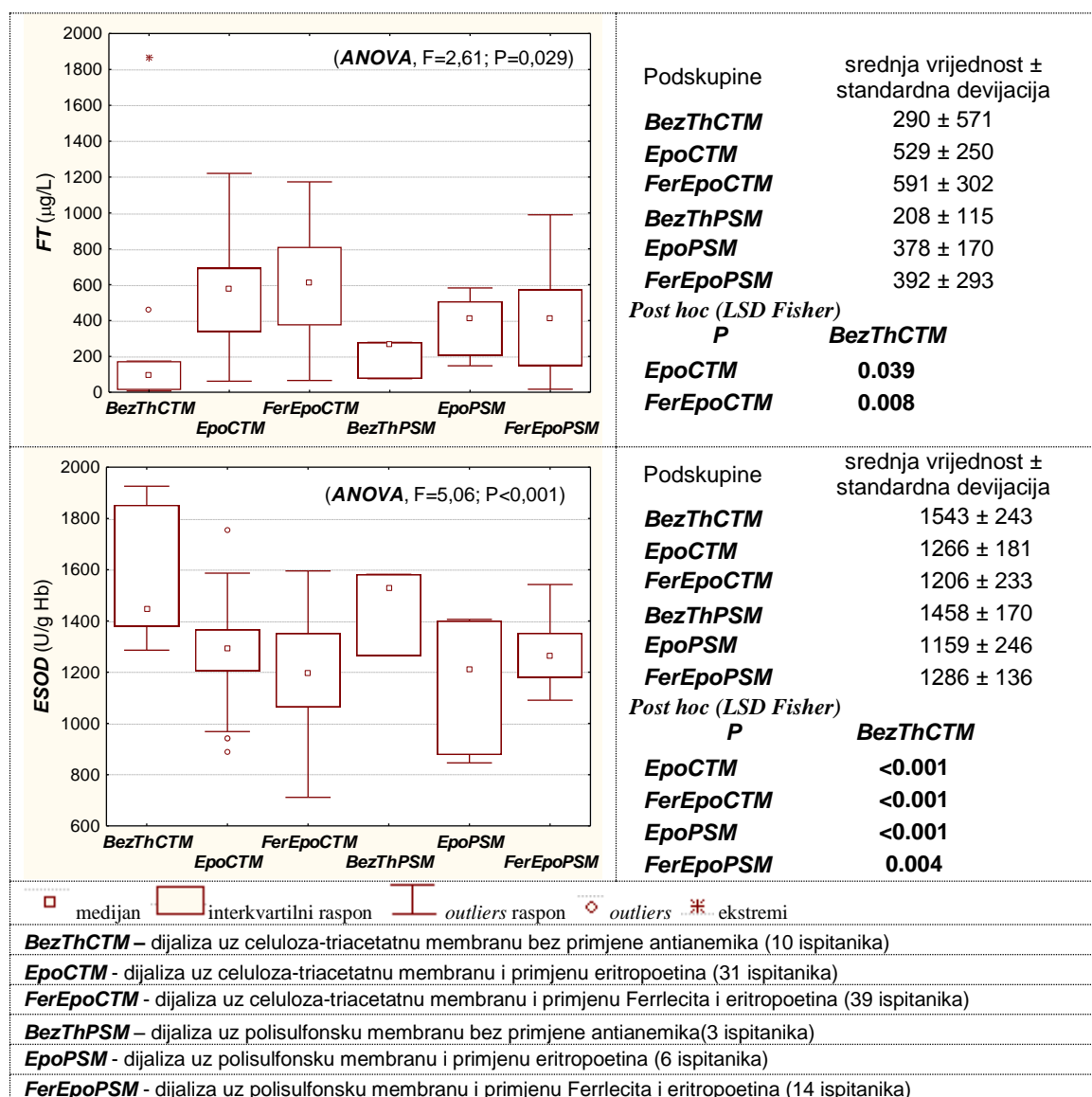
- 1) 53 ispitanika koji su liječeni eritropoetinom i Ferrlecitom (*EpoFer*);
- 2) 37 ispitanika koji su liječeni eritropoetinom (*Epo*);
- 3) 13 ispitanika koji nisu liječeni antianemicima (*BezTh*).

Tablica 4-10. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između podskupina s obzirom na liječenje antianemicima unatrag tri mjeseca

Značajnost razlike između svih podskupina		PODSKUPINA (za pojedinačno uspoređivanje s ispitnom podskupinom)		ISPITNE PODSKUPINE sekundarna analiza (post hoc)	
Kratica (jedinica)	ANOVA			<i>Epo</i>	<i>EpoFer</i>
<i>FT</i> (µg/L)	F=3,72; P=0,027	<i>BezTh</i>	271 ± 498	↑ 505 ± 244 P=0,025 ^F	↑ 538 ± 310 P=0,008 ^F
<i>TF</i> (g/L)	F=6,31; P=0,003	<i>BezTh</i>	2,13 ± 0,62	↓ 1,67 ± 0,35 P<0,001 ^{NK}	↓ 1,77 ± 0,38 P=0,003 ^{NK}
<i>ESOD</i> (U/g Hb)	F=11,0; P<0,001	<i>BezTh</i>	1523 ± 225	↓ 1249 ± 193 P<0,001 ^F	↓ 1227 ± 213 P<0,001 ^F
<i>SCa</i> (mmol/L)	F=5,53; P=0,005	<i>BezTh</i>	2,21 ± 0,15	↑ 2,37 ± 0,14 P=0,001 ^F	↑ 2,33 ± 0,16 P=0,007 ^F
<i>PNi</i> (µmol/L)	F=4,87; P=0,010	<i>BezTh</i>	0,0359 ± 0,0146	↑ 0,0511 ± 0,0139 P=0,002 ^F	↑ 0,0478 ± 0,0160 P=0,012 ^F
<i>ErCo</i> (µmol/L)	F=5,02; P=0,008	<i>BezTh</i>	0,00428 ± 0,00298	↓ 0,00265 ± 0,00135 P=0,002 ^{NK}	↓ 0,00290 ± 0,00126 P=0,004 ^{NK}
<i>ErCu</i> (µmol/L)	F=3,52; P=0,034	<i>BezTh</i>	7,7 ± 1,8	↓ 6,7 ± 1,4 P=0,027 ^F	↓ 6,6 ± 1,14 P=0,010 ^F
<i>ErCu/ErZn</i>	F=6,91; P=0,002	<i>BezTh</i>	0,0399 ± 0,0048	↓ 0,0361 ± 0,0054 P=0,034 ^F	↓ 0,0338 ± 0,0056 P<0,001 ^F

Statistički podaci za podskupine prikazani kao: srednja vrijednost ± standardna devijacija ili medijan (interkvartilni raspon)*; oznaka ^{**} - podaci odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05); ANOVA-analiza varijance; ^{NK} - Newman-Keulsov test; ^F - Fisherov LSD test; ↓ - smanjena vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine; ↑ - povećana vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine.

FT – feritin; *TF* – transferin; *ESOD* - Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima; *SCa* - ukupni kalcij u serumu; *PNi* - koncentracija nikala u plazmi; *ErCo* - koncentracija kobalta u eritrocitima; *ErCu* - koncentracija bakra u eritrocitima; *ErCu/ErZn* - količinski omjer bakra i cinka u eritrocitima; *EpoFer* - ispitanici liječeni eritropoetinom i Ferrlecitom; *Epo* - ispitanici liječeni eritropoetinom; *BezTh* - ispitanici koji nisu liječeni antianemicima.



Slika 4-2. Usporedba koncentracije feritina (*FT*) u serumu i aktivnosti Cu,Zn-superoksid-dismutaze u eritrocitima (*ESOD*) između podskupina s obzirom na liječenje eritropoetinom, Ferrlecitom te s obzirom na vrstu uporabljene hemodijalizne membrane.

U bolesnika liječenih antianemicima (samo eritropoetin ili eritropoetin uz Ferrlecit) opažen je porast koncentracije feritina te smanjenje koncentracije transferina i smanjenje aktivnosti *ESOD*-a u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima unatrag tri mjeseca (*BezTh*). Promjene mineralnog statusa u bolesnika liječenih antianemicima (eritropoetin ili eritropoetin uz Ferrlecit) očitovale su se porastom koncentracije *SCa* i *PNi* te smanjenjem koncentracije *ErCo*, *ErCu* te omjera *ErCu/ErZn* (tab. 4-10). S obzirom na vrstu uporabljene dijalizne membrane nađene su značajne razlike koncentracije feritina i aktivnosti *ESOD*-a između ispitivanih podskupina (sl. 4-2). U podskupini bolesnika dijaliziranih s *CTM*-om koji

nisu liječeni antianemicima (*BezThCTM*) je nađena značajno smanjena koncentracija *FT* i povećana aktivnost *ESOD* u usporedbi s podskupinama bolesnika liječenih antianemicima (*EpoCTM* i *FerEpoCTM*). U skupini bolesnika dijaliziranih s *PSM*-om nije nađena značajna razlika između podskupina bolesnika s obzirom na liječenje antianemicima.

4.4. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između ispitanika s obzirom na vrstu primijenjenog eritropoetina

S obzirom na vrstu eritropoetina koji se primjenjuje učinjeno je raščlanjivanje skupina bolesnika kako bi se ispitali učinci Recormona i Eprexa na antioksidacijski i mineralni status u bolesnika liječenih hemodijalizom:

- 1) 38 ispitanika koji su liječeni Eprexom (*Epr*);
- 2) 52 ispitanika koji su liječeni Recormonom (*Rec*);
- 3) 13 ispitanika koji nisu liječeni eritropoetinom, niti Ferrlecitom (*BezTh*).

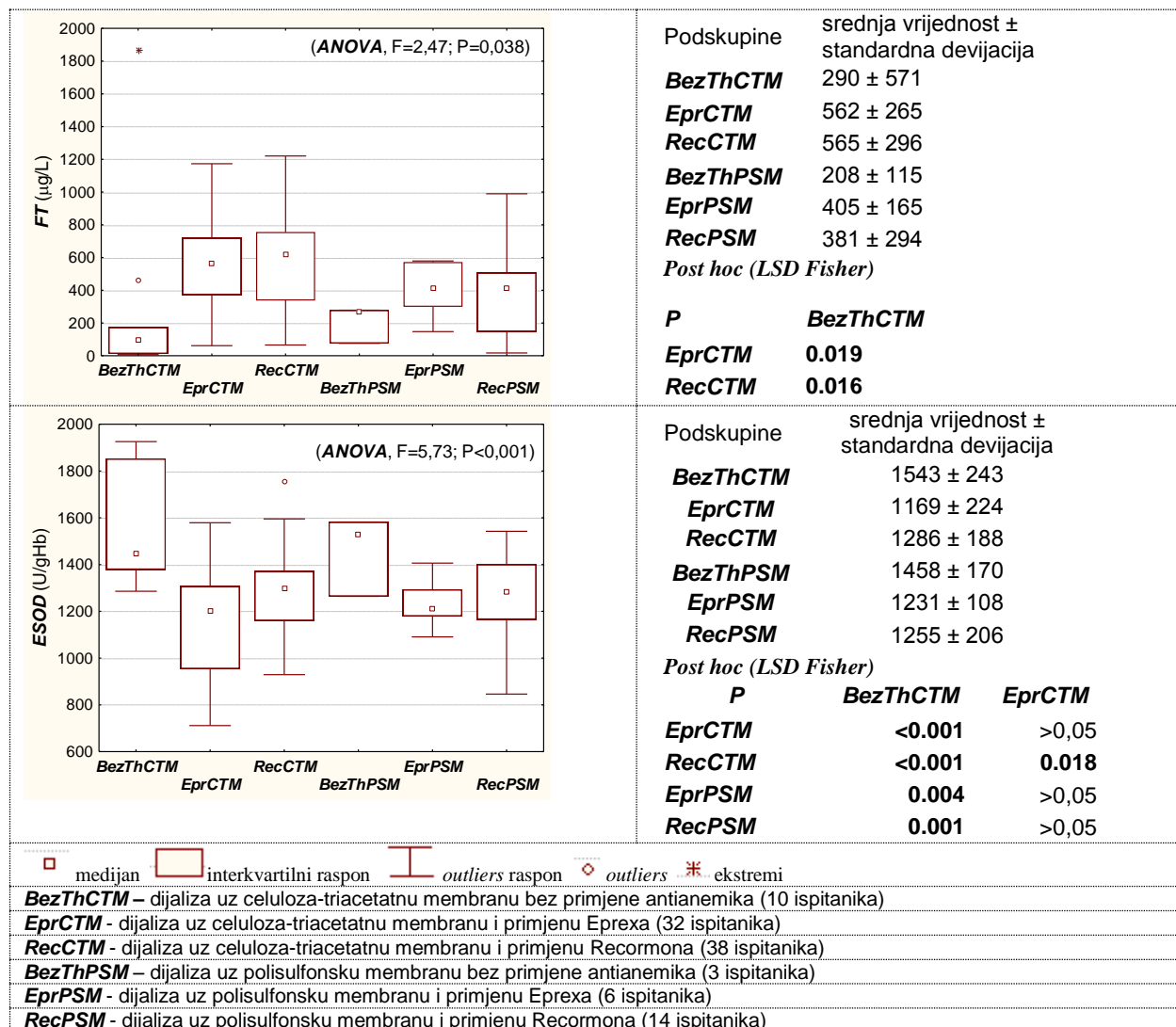
Tablica 4-11. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa između podskupina s obzirom na liječenje antianemicima unatrag tri mjeseca

Značajnost razlike između podskupina		PODSKUPINA (za pojedinačno uspoređivanje s ispitnom podskupinom)		ISPITNE PODSKUPINE sekundarna analiza (post hoc)	
Kratica (jedinica)	ANOVA			<i>Epr</i>	<i>Rec</i>
FT (µg/L)	F=3,64; P=0,030	BezTh	271 ± 257	↑ 537 ± 257 P=0,011 ^F	↑ 515 ± 304 P=0,015 ^F
TF (g/L)	F=6,25; P=0,003	BezTh	2,13 ± 0,62	↓ 1,67 ± 0,33 P<0,001 ^{NK}	↓ 1,77 ± 0,39 P=0,003 ^{NK}
NTFe (µmol/L)	F=3,75; P=0,027	BezTh	0,180 ± 0,135	↑ 0,318 (0,154 – 0,427) P=0,023 ^{NK}	P>0,05 ^{NK}
ESOD (U/g Hb)	F=14,1; P<0,001	BezTh	1523 ± 225	↓ 1178 ± 210 P<0,001 ^F	↓ 1277 ± 191 P<0,001 ^F
		Epr	1178 ± 210		↑ 1277 ± 191 P=0,024 ^F
SCa (mmol/L)	F=6,77; P=0,002	BezTh	2,21 ± 0,15	↑ 2,31 ± 0,16 P=0,025 ^F	↑ 2,37 ± 0,14 P<0,001 ^F
PNi (µmol/L)	F=4,39; P=0,015	BezTh	0,0359 ± 0,0146	↑ 0,0498 ± 0,0186 P=0,005 ^F	↑ 0,0487 ± 0,0121 P=0,008 ^F
ErCo (µmol/L)	F=5,61; P=0,005	BezTh	0,00428 ± 0,00298	↓ 0,00276 (0,0207 – 0,00363) P=0,010 ^{NK}	↓ 0,00261 ± 0,00110 P=0,002 ^{NK}
ErCu (µmol/L)	F=3,58; P=0,032	BezTh	7,7 ± 1,8	↓ 6,5 ± 1,1 P=0,010 ^F	↓ 6,7 ± 1,3 P=0,022 ^F
ErCu/ErZn	F=8,33; P<0,001	BezTh	0,0399 ± 0,0048	↓ 0,0330 ± 0,0053 P<0,001 ^F	↓ 0,0360 ± 0,0054 P=0,023 ^F
		Epr	0,0330 ± 0,0053		↑ 0,0360 ± 0,0054 P=0,012 ^F

Statistički podaci za podskupine prikazani kao: srednja vrijednost ± standardna devijacija ili medijan (interkvartilni raspon)*; oznaka „**“ - podaci odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05); ANOVA- analiza varijance; ^{NK} - Newman-Keulsov test; ^F - Fisherov LSD test; ↓ - smanjena vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine; ↑ - povećana vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine.

FT – feritin; **TF** – transferin; **NTFe** – ukupno ne-transferinsko željezo; **ESOD** - Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima; **SCa** - ukupni kalcij u serumu; **PNi** - koncentracija nikala u plazmi; **ErCo** - koncentracija kobalta u eritrocitima; **ErCu** - koncentracija bakra u eritrocitima; **ErCu/ErZn** - količinski omjer bakra i cinka u eritrocitima; **Rec** - ispitanici liječeni Recormonom; **Epr** - ispitanici liječeni Eprexom; **BezTh** - ispitanici koji nisu liječeni antianemicima.

U bolesnika liječenih eritropoetinom (Eprex ili Recormon) opažen je porast koncentracije feritina te smanjenje koncentracije transferina i smanjenje aktivnosti **ESOD**-a u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima unatrag tri mjeseca (**BezTh**). Promjene mineralnog statusa u bolesnika liječenih eritropoetinom očitovale su se porastom koncentracije **SCa** i **PNi** te smanjenjem koncentracije **ErCo**, **ErCu** te omjera **ErCu/ErZn** (tab. 4-11). Koncentracija ukupnog ne-transferinskog željeza (**NTFe**) je značajno povećana u bolesnika liječenih Eprexom u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima (tab. 4-11).

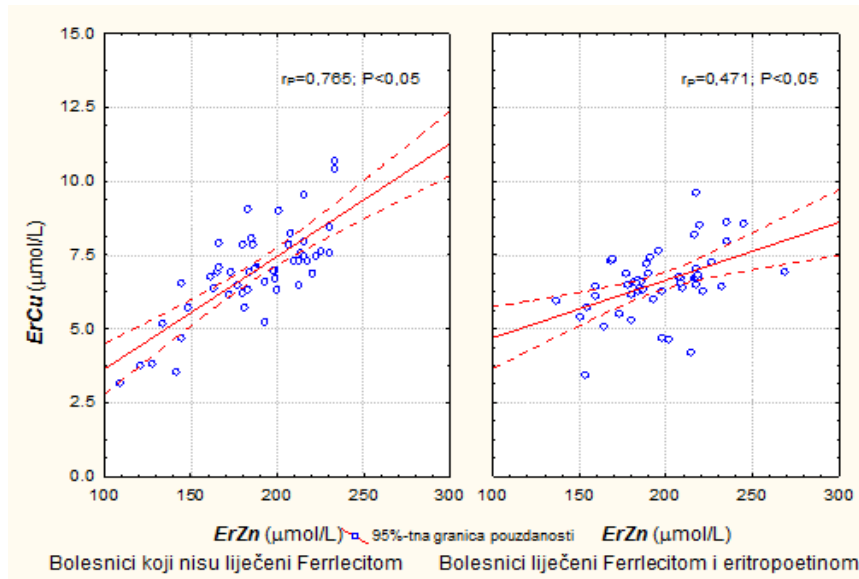


Slika 4-3. Usporedba koncentracije feritina (*FT*) u serumu i aktivnosti Cu,Zn-superoksid-dismutaze u eritrocitima (*ESOD*) između podskupina s obzirom na liječenje Eprexom, Recormonom te s obzirom na vrstu uporabljene hemodijalizne membrane.

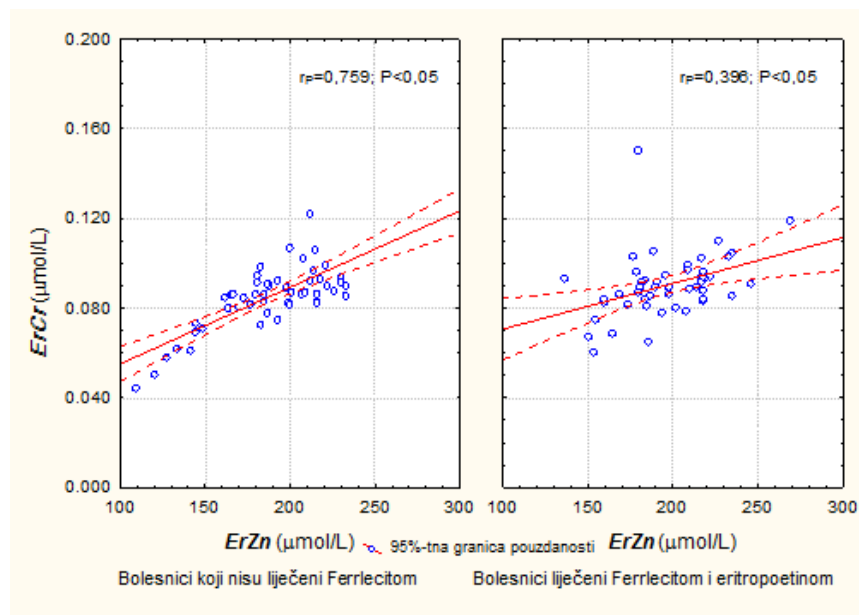
S obzirom na vrstu uporabljene dijalizne membrane nađene su značajne razlike koncentracije feritina i aktivnosti *ESOD*-a između ispitivanih podskupina (sl. 4-3). U podskupini bolesnika dijaliziranih s *CTM*-om koji nisu liječeni antianemicima (**BezThCTM**) je nađena značajno smanjena koncentracija *FT* i povećana aktivnost *ESOD* u usporedbi s podskupinama bolesnika liječenih eritropoetinom (**EprCTM** i **RecCTM**). Nadalje, u bolesnika dijaliziranih s *CTM*-om je nađena značajno smanjena aktivnost *ESOD* u podskupini bolesnika liječenih Eprexom (**EprCTM**) u usporedbi s podskupinom bolesnika liječenih Recormonom (**RecCTM**). U skupini bolesnika dijaliziranih s *PSM*-om nije nađena značajna razlika između podskupina bolesnika s obzirom na liječenje antianemicima.

4.5. Povezanost cinka s bakrom i kromom u bolesnika liječenih antianemicima (Ferrlecit i eritropoetin) i bolesnika koji nisu liječeni Ferrlecitom

Statistička značajnost razlike koeficijenta korelacije cinka s bakrom i kromom je ispitana Fisherovom Z-transformacijom ($P < 0,05$) kako bi se procijenili značajni učinci antianemika na promjenu međuodnosa između elemenata u tragovima.



Slika 4-4. Povezanost između cinka (*ErZn*) i bakra (*ErCu*) u eritrocitima između bolesnika koji nisu liječeni Ferrlecitom i koji su liječeni Ferrlecitom i eritropoetinom.



Slika 4-5. Povezanost između cinka (*ErZn*) i kroma (*ErCr*) u eritrocitima između bolesnika koji nisu liječeni Ferrlecitom i koji su liječeni Ferrlecitom i eritropoetinom.

Korelacijski koeficijenti (r_p) cinka s bakrom i kromom u eritrocitima su značajno manji (Fisherova Z-transformacija, $P < 0,05$) u bolesnika koji su liječeni Ferrlecitom i eritropoetinom u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni Ferrlecitom unatrag tri mjeseca što upućuje da primjena Ferrlecita značajno smanjuje pozitivnu povezanost cinka s bakrom i kromom (sl. 4-4 i 4-5).

4.6. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa prije i neposredno nakon primjene infuzije Ferrlecita

Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa prije i po primitku Ferrlecita u 41 ispitanika koji su na dan uzorkovanja krvi primili infuziju Ferrlecita:

1. uzorkovanje krvi- prije postupka hemodijalize i prije infuzije Ferrlecita (prije *Fer*);
2. uzorkovanje krvi- 5-10 minuta po primitku Ferrlecita tijekom postupka hemodijalize (nakon *Fer*).

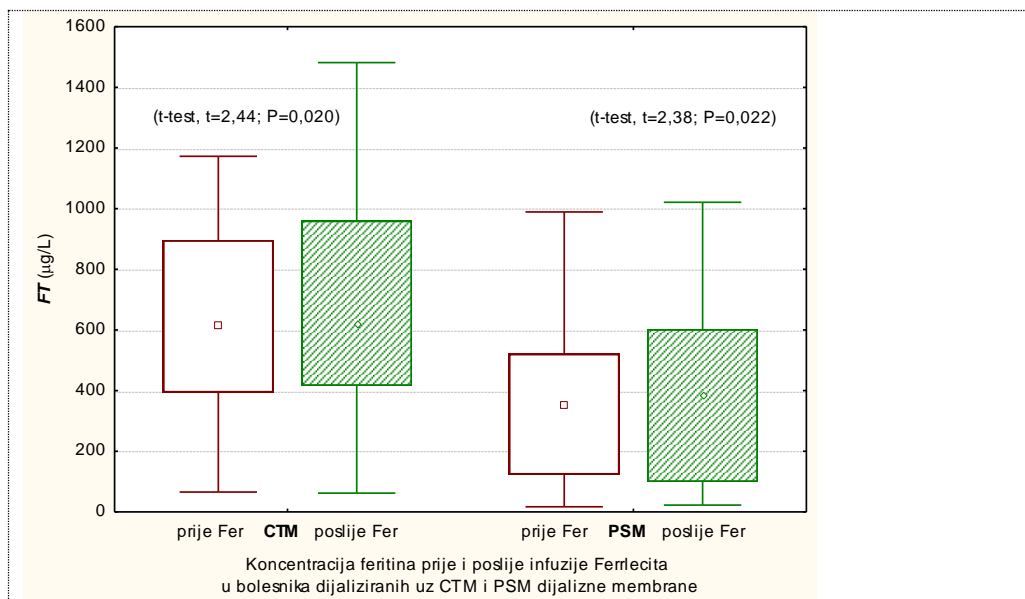
Ponovljeno uzorkovanje po primitku Ferrlecita je učinjeno kako bi se ispitali kratkoročni učinci Ferrlecita na antioksidacijski i mineralni status u bolesnika liječenih hemodijalizom.

Tablica 4-12. Usporedba pokazatelja antioksidacijskog i mineralnog statusa prije i nakon primjene Ferrlecita i hemodijalize u 41 bolesnika liječenih hemodijalizom

pokazatelji	srednja vrijednost ± standardna devijacija medijan (interkvartilni raspon)*		P
	<i>prije primjene Ferrlecita</i> (prijeFer)	<i>nakon primjene Ferrlecita</i> (nakonFer)	
Pokazatelji statusa bakra			
SCu (μmol/L)	17,8 ± 3,9	↑ 19,0 ± 3,8	<0,001 ^{ptT}
CPa (U/L)	485 ± 123	↑ 507 ± 123	0,006 ^{ptT}
SCus (μmol/L)	4,9 ± 1,8	↑ 5,8 ± 0,8	0,001 ^{ptT}
Pokazatelji statusa željeza			
SFe (μmol/L)	10,8 ± 5,5	↑ 26,4 ± 7,3	<0,001 ^{ptT}
UIBC (μmol/L)	28,2 ± 8,6	↓ 21,1 ± 8,9	<0,001 ^{ptT}
TIBC (μmol/L)	39,0 ± 7,2	↑ 47,5 ± 7,6	<0,001 ^{ptT}
FT (μg/L)	536 ± 333	↑ 595 ± 396	0,001 ^{ptT}
FT/PRO (μg/g PRO)	7,8 ± 4,79	↑ 8,4 ± 5,4	0,002 ^{ptT}
TF (g/L)	1,83 ± 0,39	↑ 1,89 ± 0,40	0,017 ^{ptT}
TSAT (%)	24,2 ± 19,9	↑ 57,7 ± 19,3	<0,001 ^{ptT}
NTFe (μmol/L)	0,348 ± 0,332	↑ 0,520 (0,384 – 0,659)	<0,001 ^{WpT}
NTFe(II) (μmol/L)	0,182 (0,076 - 309)	↓ 0,084 (0,017 – 0,217)	0,012 ^{WpT}
NTFe(III) (μmol/L)	0,001 (0,001 – 0,167)	↑ 0,472 ± 0,344	<0,001 ^{WpT}
NTFe(II)/NTFe(III)	75,7 (1,7 – 153,5)	↓ 0,1 (0,1 – 0,9)	<0,001 ^{WpT}
NTFe/TF (μmol/g TF)	0,192 ± 0,167	↑ 0,286 (0,191 – 0,373)	<0,001 ^{WpT}
Antioksidacijski enzimi u plazmi i eritrocitima			
KEs (U/L)	4506 ± 1081	↑ 4685 ± 1179	0,001 ^{ptT}
SSOD (U/L)	51, 9 ± 20,5	↑ 58,4 ± 25,3	0,050 ^{ptT}
SGRd (U/L)	52,1 ± 13,7	↑ 54,0 ± 14,1	0,007 ^{ptT}
ESOD (U/g Hb)	1241 ± 223	↑ 1310 ± 226	0,010 ^{ptT}
EG6PD (U/g Hb)	15,1 (10,3 – 17,7)	↓ 13,3 ± 4,7	0,017 ^{WpT}

Oznaka „**“ - podaci odstupaju od normalne razdiobe (Kolmogorov-Smirinov test, P<0,05); ptT - parni t-test; WpT - Wilcoxonov parni test; ↓ - smanjena vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine; ↑ - povećana vrijednost pokazatelja spram usporedbene skupine.

SCu - bakar u serumu; **CPa** - feroksidazna aktivnost ceruloplazmina; **SCus** - ne-ceruloplazminski bakar u serumu; **SFe** - željezo u serumu; **UIBC** - nezasićeni kapacitet vezanja željeza; **TIBC** - ukupni kapacitet vezanja željeza; **FT** - feritin; **FT/PRO** - omjer između feritina i ukupnih proteina; **TF** - transferin; **TSAT** - zasićenje transferina željezom; **NTFe** - ukupno ne-transferinsko željezo; **NTFe(II)** - dvovalentno ne-transferinsko željezo; **NTFe(III)** - trovalentno ne-transferinsko željezo; **NTFe(II)/NTFe(III)** - omjer između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza; **NTFe/TF** - omjer između ukupnog ne-transferinskog željeza i transferina; **KEs** - pseudokolinesteraza; **SSOD** - bakar, cink-superoksid-dismutaza u serumu; **SGRd** - glutation-reduktaza u serumu; **ESOD** - bakar, cink-superoksid-dismutaza u eritrocitima; **EG6PD** - glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza u eritrocitima.



<i>FT</i> (µg/L)	srednja vrijednost ± standardna devijacija		parni t-test
podskupina	<i>prijeFerCTM</i>	<i>nakonFerCTM</i>	P=0,003
	613 ± 326	684 ± 396	
podskupina	<i>prijeFerPSM</i>	<i>nakonFerPSM</i>	P=0,048
	350 ± 284	379 ± 312	
t-test	p=0,020	p=0,022	

<i>prijeFerCTM</i> – prije HD i infuzije Ferrlecita uz CTM hemodijalizu	(29 ispitanika)
<i>nakonFerCTM</i> - tijekom HD i nakon infuzije Ferrlecita uz CTM hemodijalizu	
<i>prijeFerPSM</i> - prije HD i infuzije Ferrlecita uz PSM hemodijalizu	(12 ispitanika)
<i>nakonFerPSM</i> - tijekom HD i nakon infuzije Ferrlecita uz PSM hemodijalizu	

Slika 4-6. Utjecaj dijaliznih membrana na koncentraciju feritina.

Neposredno nakon primjene Ferrlecita u 41 ispitanika je opažen (tab. 4-12): porast pokazatelja ukupnog i slobodnog željeza (*SFe*, *NTFe*, *NTFe(III)*, *TIBC*, *TSAT*, *TF* i *FT*) i bakra (*SCu*, *Cus*), porast aktivnosti antioksidacijskih enzima u serumu (*CPa*, *KEs*, *SSOD* i *SGRd*) te aktivnosti *ESOD*-a u eritrocitima; odnosno, smanjenje koncentracije *NTFe(II)*, smanjenje nezasićenog kapaciteta transferina za vezanje željeza u serumu *UIBC*-a te smanjenje aktivnosti *EG6PD*-a u eritrocitima. Iako koncentracija feritina u ispitanika ovisi o vrsti uporabljene dijalizne membrane (tab. 4-9 i sl. 4-6) porast koncentracije feritina nakon primjene Ferrlecita je opažen u obje podskupine (*CTM* i *PSM*) u usporedbi s početnom koncentracijom feritina prije primjene Ferrlecita (parni t-test, $P < 0,05$).

4.7. Povezanost antioksidacijskih enzima u eritrocitima s elementima u tragovima u bolesnika liječenih hemodijalizom

Povezanost aktivnosti antioksidacijskih enzima u eritrocitima i koncentracije elemenata u tragovima u plazmi i eritrocitima ispitana je postupnom višestrukom linearnom regresijom (tab. 4-13) u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom.

Tablica 4-13. Povezanost elemenata u tragovima u plazmi i eritrocitima s aktivnošću eritrocitnih antioksidacijskih enzima u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom

Regresand	<i>ESOD</i>		<i>EGPx</i>		<i>EGRd</i>	<i>EG6PD</i>
Skupina regresora	Elementi u tragovima u plazmi i eritrocitima					
	plazma	eritrociti	plazma	eritrociti	plazma	
R_m	0,502 ^{*3}	0,773 ^{*3}	0,408 ^{*2}	0,497 ^{*3}	0,371 ^{*2}	0,363 ^{*1}
Statistički značajni regresori	β	β	β	β	β	β
Aluminij	(-0,230 ^{*1})					(-0,244 ^{*1})
Krom				-0,263 ^{*1}		
Željezo		-0,561 ^{*3}				
Kobalt	(0,221 ^{*1})					
Bakar		0,884 ^{*3}				
Cink		0,233 ^{*1}			0,364 ^{*3}	
Selen			0,361 ^{*3}	(0,349 ^{*2})		
Molibden			0,186 ^{*1}			
Kadmij				(-0,210 ^{*1})		
Olovo				0,236 ^{*1}		

Nikal i mangan nisu pokazali značajan utjecaj na aktivnost eritrocitnih antioksidacijskih enzima. Vrijednosti β ispisane unutar zagrada se odnose na logaritmirane regresore.

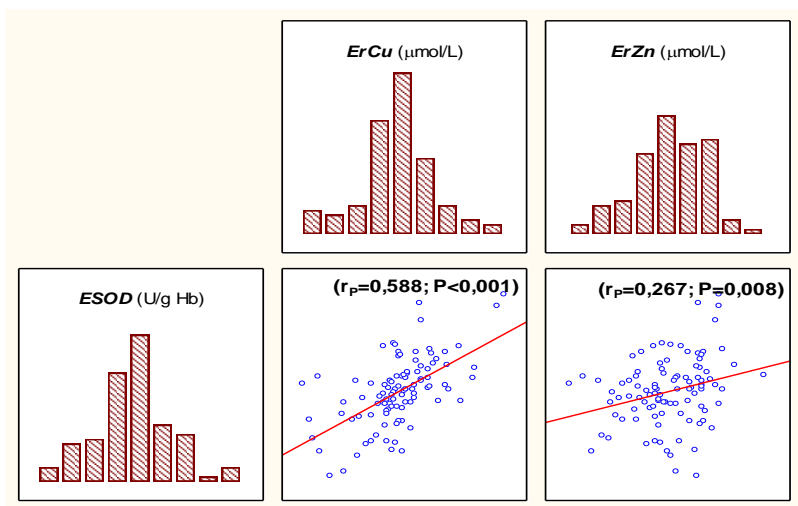
R_m – korelacijski koeficijent modela postupne višestruke linearne regresije; β – parcijalni koeficijent povezanosti regresora s regresandom; P – razina statističke značajnosti: P<0,05^{*1}; P<0,01^{*2}; P<0,001^{*3}

ESOD – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima; *EGPx* – glutation-peroksidaza u eritrocitima; *EGRd* – glutation-reduktaza u eritrocitima; *G6PD* - glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza u eritrocitima.

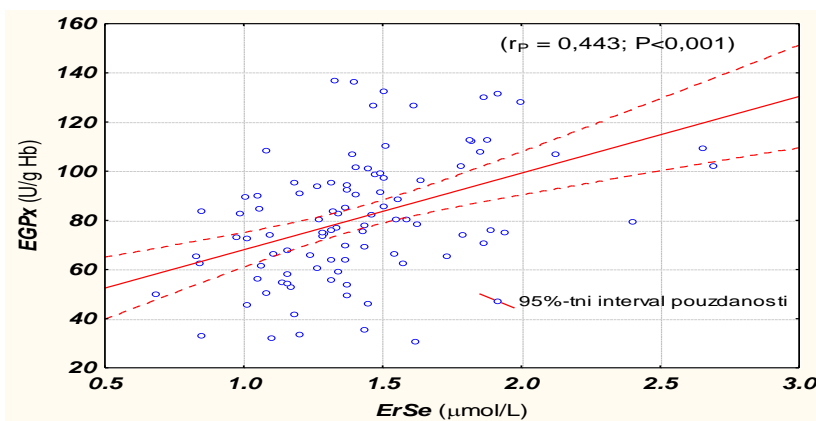
Porast koncentracije kobalta u plazmi te porast koncentracije bakra i cinka u eritrocitima, odnosno smanjenje koncentracije aluminija u plazmi te smanjenje koncentracije željeza u eritrocitima je povezano s porastom aktivnosti *ESOD*-a.

Porast koncentracije selena i molibdena u plazmi te porast koncentracije selena i olova u eritrocitima, odnosno smanjenje koncentracije kroma i kadmija u eritrocitima je povezano s porastom aktivnosti *EGPx*-a.

Porast koncentracije cinka u plazmi je povezan s porastom aktivnosti *EGRd*-a. Smanjenje koncentracije aluminija u eritrocitima je povezano s porastom aktivnosti *EG6PD*-a.



Slika 4-7. Povezanost aktivnosti *ESOD*-a s koncentracijom *ErCu* i *ErZn* u 103 bolesnika liječena hemodijalizom.



Slika 4-8. Povezanost aktivnosti *EGPx*-a s koncentracijom *ErSe* u 103 bolesnika liječena hemodijalizom.

Cu,Zn-superoksid-dismutaze (*ESOD*) i glutation-peroksidaze (*EGPx*) su metaloenzimi pa je očekivana pozitivna povezanost Cu,Zn-superoksid-dismutaze s bakrom i cinkom, odnosno glutation-peroksidaze sa selenom u eritrocitima (sl. 4-7 i 4-8).

4.8. Povezanost mineralnog i antioksidacijskog statusa s neučinkovitošću antianemika u liječenju anemije

Povezanost elemenata u tragovima i antioksidacijskog sustava obrane s neučinkovitošću antianemika u liječenju anemije ispitani su metodom postupne višestruke linearne regresije (tab. 4-14 i 4-15).

Tablica 4-14. Povezanost elemenata u tragovima s neučinkovitošću antianemika u liječenju anemije

Regresand	<i>RzFer</i>		<i>RzEpr</i>		<i>RzRec</i>	
	plazma	eritrociti	plazma	eritrociti	plazma	eritrociti
R_m	0,660* ³	0,596* ²	0,737* ³	0,725* ³	ns	0,441* ¹
Statistički značajni regresori	β	β	β	β	β	β
Mangan	-0,309* ¹	0,398* ²		0,384* ²		0,408* ²
Željezo		-0,472* ²				sup
Kobalt	(0,426* ²)					
Bakar			0,398* ²	-0,322* ¹		
Cink			0,340* ¹			
Selen	-0,310* ¹			(-0,355* ¹)		
Kadmij	(0,284* ¹)		(0,553* ³)			
Aluminij, krom, nikal, molibden i olovo u plazmi i eritrocitima nisu značajno povezani s učinkovitošću antianemika. Vrijednosti β ispisane unutar zagrada se odnose na logaritmirane regresore.						

R_m – korelacijski koeficijent modela postupne višestruke linearne regresije; β – parcijalni koeficijent povezanosti regresora s regresandom; P – razina statističke značajnosti: P>0,05 – ns; P<0,05*¹; P<0,01*²; P<0,001*³; Sup – varijabla isključena iz modela višestruke linearne regresija zbog supresije modela.

RzFer - pokazatelj rezistencije na Ferrlecit (53 ispitanika); *RzEpr* - pokazatelj rezistencije na Eprex (38 ispitanika); *RzRec* - pokazatelj rezistencije na Recormon (52 ispitanika).

Porast koncentracije mangana i selena u plazmi te porast koncentracije željeza u eritrocitima te smanjenje koncentracije kobalta i kadmija u plazmi te smanjenje koncentracije mangana u eritrocitima su povezani s porastom učinkovitosti Ferrlecita.

Porast koncentracije bakra i selena u eritrocitima te smanjenje koncentracije bakra, cinka i kadmija u plazmi te smanjenje koncentracije mangana u eritrocitima su povezani s porastom

učinkovitosti Eprexa. Smanjenje koncentracije mangana u eritrocitima je povezano s porastom učinkovitosti Recormona.

Oprečna povezanost pokazatelja rezistencije na Ferrlecit (**RzFer**) s manganom u plazmi i eritrocitima (tab. 4-14) proizlazi iz pozitivne povezanosti količinskog omjera između mangana u eritrocitima i plazmi **ErMn/PMn** sa **RzFer**-om ($r_P = 0,341$; $P = 0,018$) odnosno negativne povezanosti **ErMn/PMn** s **BMI**-ijem ($r_P = -0,448$; $P = 0,001$) što upućuje da je pothranjenost izgledni čimbenik pomaka mangana iz plazme u eritrocite, tj. pothranjenost je čimbenik koji doprinosi smanjenju učinkovitosti Ferrlecita.

Oprečna povezanost pokazatelja rezistencije na Eprex (**RzEpr**) s bakrom u plazmi i eritrocitima (tab. 4-14) proizlazi iz negativne povezanosti količinskog omjera između bakra u eritrocitima i plazmi **ErCu/PCu** sa **RzEpr**-om ($r_P = -0,541$; $P = 0,008$) odnosno negativne povezanosti **ErCu/PCu** s **logCRP**-om ($r_P = -0,598$; $P < 0,001$) što upućuje da je upala izgledni čimbenik pomaka bakra iz eritrocita u plazmu, tj. upala je čimbenik koji doprinosi smanjenju učinkovitosti Eprexa.

Tablica 4-15. Povezanost enzimskih i ne-enzimskih antioksidansa u plazmi i eritrocitima s neučinkovitošću antianemika u liječenju anemije

Regresand	RzFer	RzEpr	RzRec
Sastavnice antioksidacijskog sustava obrane u plazmi i eritrocitima			
R_m	0,714* ²	0,854* ³	0,589* ²
Statistički značajni regresori	β	β	β
Glukoza	-0,270* ¹		-0,353* ¹
Konjugirani bilirubin		-0,271* ¹	
Albumin	-0,519* ³		-0,348* ¹
Feritin			-0,337* ¹
SGRd		0,393* ²	
ESOD		-0,338* ²	
EG6PD		0,386* ²	
Transferin, urat, SSOD , KEs , PONb , EGRd , EGPx nisu značajno povezani s učinkovitošću antianemika. Vrijednosti β ispisane unutar zagrada se odnose na logaritmirane regresore.			

R_m – korelacijski koeficijent modela postupne višestruke linearne regresije; β – parcijalni koeficijent povezanosti regresora s regresandom; P – razina statističke značajnosti: P<0,05*¹; P<0,01*²; P<0,001*³.

RzFer - pokazatelj rezistencije na Ferrlecit (53 ispitanika); **RzEpr** - pokazatelj rezistencije na Eprex (38 ispitanika); **RzRec** - pokazatelj rezistencije na Recormon (52 ispitanika).

Porast ne-enzimskih antioksidansa (glukoze, konjugiranog bilirubina, albumina i feritina) je povezan s porastom učinkovitosti Ferrlecita i/ili pripravaka eritropoetina. Porast aktivnosti *ESOD*-a, odnosno smanjenje aktivnosti *SGRd*-a i *EG6PD*-a je povezan s porastom učinkovitosti Eprexa. Istovjetna povezanost aktivnosti *ESOD*-a i koncentracije *ErCu* s učinkovitošću Eprexa je očekivana s obzirom da je aktivnost *SOD*-a razmjerna statusu bakra (sl. 4-7).

4.9. Povezanost oksidacijskog stresa, upale te lipidnog, antioksidacijskog i mineralnog statusa u bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom

Statistička povezanost između odabranih pokazatelja ispitana je Pearsonovom linearnom regresijom (r_p) u 53 bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom unatrag tri mjeseca.

Tablica 4-16. Povezanosti (r_p) ne-transferinskog željeza, oksidacijskog stresa, aktivnosti *PON*-a, lipidnog statusa sa *SCP*-om i omjerom *SSOD/SGRd* u 53 bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom unatrag tri mjeseca

<i>Pokazatelji</i>	<i>NTFe</i>	<i>NTFe(II)</i>	<i>NTFe(III)</i>	<i>PK</i>	<i>PONb</i>	<i>TG</i>	<i>ne-HDL</i>
<i>SCP</i>	-0,274* ¹			-0,344* ¹			
<i>SSOD/SGRd</i>		-0,358* ²	0,456* ²	0,375* ²	-0,378* ²	-0,422* ²	-0,472* ³

P – razina statističke značajnosti: P<0,05*¹; P<0,01*²; P<0,001*³.

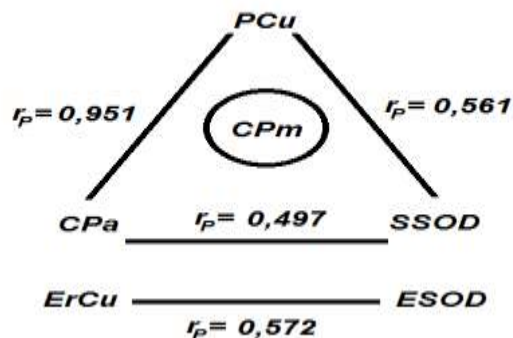
SCP – specifična feroksidazna aktivnost ceruloplazmina; *SSOD/SGRd* – omjer Cu,Zn-superoksid-dismutaze i glutation-reduktaze u serumu; *NTFe* – ukupno ne-transferinsko željezo, *NTFe(II)* – dvovalentno ne-transferinsko željezo; *NTFe(III)* – trovalentno ne-transferinsko željezo; *PK* – proteinski karbonili; *PONb* – bazalna aktivnost paraoksonaze; *TG* – trigliceridi; *ne-HDL* – ne-HDL-kolesterol.

Specifična feroksidazna aktivnost ceruloplazmina je obrnuto razmjerno povezana s koncentracijom ukupnog ne-transferinskog željeza i proteinskih karbonila u 53 bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom unatrag tri mjeseca (tab. 4-16).

Omjer *SSOD/SGRd* je pozitivno povezan s koncentracijom trovalentnog ne-transferinskog željeza i proteinskih karbonila odnosno *SSOD/SGRd* je obrnuto razmjerno povezan s koncentracijom dvovalentnog ne-transferinskog željeza i aktivnošću *PON*-a te pokazateljima lipidnog statusa (*TG* i *ne-HDL*).

Nađena je značajna pozitivna povezanost (sl. 4-9) između pokazatelja statusa bakra u plazmi *PCu*, *CPa* i *SSOD*-a (P < 0,001) odnosno između pokazatelja statusa bakra u eritrocitima *ErCu* i *ESOD*-a (P < 0,001) u 53 bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom.

Nije nađena značajna međusobna povezanost između eritrocitnih i plazmatskih pokazatelja statusa bakra.



Slika 4-9. Povezanost pokazatelja bakra u plazmi ili serumu te pokazatelja bakra u eritrocitima. Koncentracija ceruloplazmina (**CPm**) je očekivano pozitivno povezana s **CPa**, **SSOD** i **PCu** ($r_p > 0,600$; $P < 0,001$). Ostale povezanosti (r_p ; $P < 0,001$) su prikazane na slici.

PCu – koncentracija bakra u plazmi; **CPa** – feroksidazna aktivnost ceruloplazmina; **CPm** – koncentracija ceruloplazmina; **SSOD** – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u serumu; **ErCu** – koncentracija bakra u eritrocitima; **ESOD** – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima; r_p – Pearsonov korelacijski koeficijent.

Pokazatelj funkcionalnog nedostatka željeza (**LHCC**) je pozitivno povezan s oksidacijskim stresom i upalom, odnosno **LHCC** je negativno povezan s pokazateljima nutritivskog i/ili antioksidacijskog statusa (tab. 4-17).

Divalentno ne-transferinsko željezo je negativno povezano s pokazateljima funkcionalnog nedostatka željeza (**LHCC**), upale (**CRP**), oksidacijskog stresa (**PK**) i aktivnošću **SSOD**-a. Nadalje, divalentno ne-transferinsko željezo je pozitivno povezano s pokazateljima nutritivskog i/ili antioksidacijskog statusa (**Ur**, **Urat**, **TG**, **ne-HDL**, **ALB** i **KEs**).

Trovalentno ne-transferinsko željezo je pozitivno povezano s koncentracijom proteinskih karbonila te s aktivnošću **SSOD**-a.

Koncentracija proteinskih karbonila je pozitivno povezana s aktivnošću **SSOD** i koncentracijom **CRP**-a. Porast aktivnosti **SSOD**-a se može pripisati prilagodbenom odgovoru na oksidacijski stres odnosno porast aktivnosti **SSOD**-a može biti posljedica uznapredovale ateroskleroze.

Pokazatelji nutritivskog i/ili antioksidacijskog statusa (**Ur**, **Urat**, **TG**, **ne-HDL**, **ALB** i **KEs**) su međusobno pozitivno povezani. Nadalje, pokazatelji nutritivskog i/ili antioksidacijskog statusa su negativno povezani s aktivnošću **SSOD**-a. Aktivnost **PON**-a je pozitivno povezana s nutritivskim pokazateljima koji su neovisni o ostatnoj ekskrecijskoj funkciji bubrega odnosno koji su neovisni o učinkovitosti hemodijalize (**TG**, **ne-HDL**, **ALB** i **KEs**).

Tablica 4-17. Povezanosti (r_p) statusa željeza (ne-transferinskog željeza i funkcionalnog nedostatka željeza), oksidacijskog stresa, upale te nutritivnog i antioksidacijskog statusa u 53 bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom

I		II			III								
status željeza		upala i oksidacijski stres			nutritivni i antioksidacijski status								
pokazatelj	<i>NTFe(II)</i>	<i>NTFe(III)</i>	<i>PK</i>	<i>CRP</i>	<i>Ur</i>	<i>Urat</i>	<i>TG</i>	<i>ne-HDL</i>	<i>ALB</i>	<i>KEs</i>	<i>PONb</i>	<i>SSOD</i>	
I	<i>LHCC</i>	-0,336 ^{#1}	0,318 ^{*1}	0,467 ^{*3}	0,607 ^{*3}	-0,300 ^{*1}	-0,337 ^{*1}	-0,325 ^{*1}		-0,440 ^{*2}	-0,342 ^{*1}		0,495 ^{*3}
	<i>NTFe(II)</i>			-0,266 ^{#1}	-0,429 ^{#2}	0,511 ^{#3}	0,482 ^{*3}	0,450 ^{#3}	0,476 ^{*3}	0,490 ^{#3}	0,315 ^{*1}	0,321 ^{*1}	-0,478 ^{#3}
	<i>NTFe(III)</i>			0,400 ^{*2}									0,425 ^{*2}
II	<i>PK</i>				0,468 ^{*3}	-0,276 ^{*1}			-0,398 ^{*2}	-0,465 ^{*3}			0,502 ^{*3}
	<i>CRP</i>					-0,383 ^{*2}		-0,533 ^{3S}	-0,309 ^{#1}	-0,630 ^{*3}		-0,281 ^{#1}	0,510 ^{#3}
III	<i>Ur</i>						0,438 ^{*2}	0,353 ^{*2}	0,313 ^{*1}	0,410 ^{*2}	0,373 ^{*2}		-0,272 ^{*1}
	<i>Urat</i>							0,427 ^{*2}	0,493 ^{*3}	0,298 ^{*1}	0,323 ^{*1}		-0,410 ^{*2}
	<i>TG</i>								0,474 ^{*3}	S 0,423 ^{2S}	0,278 ^{1S}	0,397 ^{2S}	-0,452 ^{*2}
	<i>ne-HDL</i>									0,403 ^{*2}	0,301 ^{*1}	0,416 ^{*2}	-0,482 ^{*3}
	<i>ALB</i>										0,492 ^{*3}	0,272 ^{*1}	-0,376 ^{*2}
	<i>KEs</i>											0,331 ^{*1}	-0,374 ^{*2}

logaritmirana varijabla; Pearsonov koeficijent korelacije (r_p) uz razinu statističke značajnosti: $P < 0,05^{*1}$; $P < 0,01^{*2}$; $P < 0,001^{*3}$

LHCC – udio hipokromnih eritrocita, *NTFe(II)* – divalentno ne-transferinsko željezo; *NTFe(III)* – trovalentno ne-transferinsko željezo; *PK* – proteinski karbonili; *CRP* – C-reaktivni protein; *Ur* – ureja; *Urat* – mokraćna kiselina; *TG* – trigliceridi; *ne-HDL* – ne-HDL-kolesterol; *ALB* – albumin; *KEs* – pseudokolinesteraza; *PONb* – bazalna aktivnost paraoksonaze; *SSOD* – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u serumu.

5. RASPRAVA

Biokemijski i hematološki pokazatelji u ispitivanoj skupini bolesnika liječenih hemodijalizom

Nakupljanje neproteinskih dušikovih spojeva i niskomolekulskih proteina te uremijskih toksina u bubrežnih bolesnika rezultira pothranjenošću, oksidacijskim stresom, upalom i anemijom [243-247]. U ispitivanoj skupini je opažen višestruki porast srednjaka koncentracije ureje, kreatinina, α_1 -mikroglobulina, β_2 -mikroglobulina što se pripisuje smanjenju **GFR**-a u bubrežnom zatajenju. Visoka pojavnost hiperkalijemije, hiperfosfatemije, hipermagnezijemije, hiperuricemije i hiponatrijemije u ispitanika upućuje na složeni poremećaj metabolizma i prometa minerala u bubrežnom zatajenju (tab. 4-2) što je u suglasju s očekivanjima u bolesnika liječenih hemodijalizom [17].

Pothranjenost je pridruženi čimbenik u razvoju upale, anemije, ateroskleroze te krvožilnih komplikacija u bolesnika liječenih hemodijalizom. Nutricijski status bolesnika liječenih hemodijalizom procjenjuje se antropometrijskim pokazateljima, odnosno odabranim biokemijskim pokazateljima (snižena aktivnost pseudokolinesteraze i snižena koncentracija albumina, transferina, kolesterola i cinka u serumu) i/ili hematološkim pokazateljima (smanjeni broj limfocita u krvi) [30,118,245,248]. U pothranjenih bolesnika je opaženo smanjenje koncentracije mokraćne kiseline i **ne-HDL**-kolesterola te porast omjera između bakra i cinka odnosno porast aktivnosti Cu,Zn-superoksid-dismutaze i pokazatelja upale u serumu (sl. 4-1.1 do 4-1.3). S obzirom da su porast aktivnosti serumske Cu,Zn-superoksid-dismutaze i upala pozitivni pretkazatelji uznapredovalosti ateroskleroze potvrđuje se teorija „reverzne epidemiologije“ prema kojoj su porast koncentracija kolesterola i/ili urata poželjani u bolesnika liječenih hemodijalizom [149].

Povećan udio hipokromnih eritrocita u ispitanika upućuje na stanoviti funkcionalni nedostatak željeza koji rezultira anemijom kronične bubrežne bolesti (tab. 4-3). Srednjak koncentracije feritina (tab. 4-4) je unutar ciljnog intervala za bolesnike liječene hemodijalizom [71]. Porast koncentracije feritina u bolesnika liječenih hemodijalizom je ponajviše posljedica upale i ne odražava količinu pohranjenog željeza u organizmu. Pojava toksičnih učinaka željeza je izgledna kada je koncentracija feritina $>2000 \mu\text{g/L}$ [68,73,248,249].

Funkcionalni nedostatak željeza (povećan udio hipokromnih eritrocita), pridružena upala (porast koncentracije **CRP**-a; povećanje udjela proteina akutne faze α_1 -globulina i α_2 -

globulina te smanjenje koncentracije albumina), porast oksidacijskog stresa (porast koncentracije proteinskih karbonila) pogoduju razvoju anemije kronične bubrežne bolesti u ispitivanoj skupini bolesnika (tab. 4-2, 4-3 i 4-5).

Hipoalbuminemija uz pridruženu upalu (povišena koncentracija **CRP**-a) u bolesnika liječenih hemodijalizom je pretkazatelj rizika od smrtnog ishoda. Istodobni porast koncentracije **CRP**-a, smanjenje koncentracije albumina te oksidacijski stres su pozitivno povezani s pobolom od krvožilnih bolesti, odnosno s porastom smrtnosti od srčanožilnih bolesti u bolesnika liječenih hemodijalizom [246,247,250].

Mnogobrojni čimbenici uzrokuju promjene mineralnog i antioksidacijskog statusa u bolesnika liječenih hemodijalizom, primjerice smanjeni unos esencijalnih tvari prehranom, gubici esencijalnih tvari dijalizom, povećana izloženost toksičnim metalima, smanjeno izlučivanje uremijskih toksina, upala, oksidacijski stres i dr. [16,43,45-50]. Smanjenje koncentracije albumina u upali i/ili pothranjenosti rezultira smanjenjem koncentracije cinka i selena, s obzirom da su cink i selen djelomično vezani na albumin u plazmi. Upala značajno utječe na koncentraciju elemenata u tragovima u plazmi, ponajprije bakra, pa je uputno za procjenu statusa elemenata u tragovima rabiti eritrocitne pokazatelje. Međutim, bez obzira na ograničenja, pokazatelji statusa elemenata u tragovima u plazmi odnosno serumu se i dalje rabe u procjeni statusa elemenata u tragovima. Pokazatelji elementa u tragovima u plazmi odražavaju kratkoročnu izloženost toksičnim elementima odnosno odražavaju stvarnu biološku raspoloživost esencijalnih elemenata u tragovima [38].

Koncentracija esencijalnih elemenata u tragovima u plazmi ispitanika (selena, cinka i mangana) je snižena. Međutim, nije opažena snižena koncentracija selena i cinka u krvi što može upućivati na primjeren status cinka i selena u organizmu, ali istodobno upućuje na smanjenu biološku raspoloživost cinka i selena.

Povišena koncentracija nikla i kroma u ispitanika je očekivana s obzirom na povećanu izloženost niklu i kromu jer su dijelovi dijalizatora i medicinske igle izrađene od visokokvalitetnih nehrđajućih čelika (legura nikla, kroma i željeza). Povišena koncentracija molibdena u plazmi i krvi ispitanika upućuje na nakupljanje molibdena što je očekivano s obzirom da se molibden izlučuje mokraćom. Povišena koncentracije kobalta u plazmi ispitanika je očekivana s obzirom da bolesnici liječeni hemodijalizom povremeno primaju kobalamin. Povišena koncentracija olova u plazmi ispitanika je očekivana s obzirom da je izlučivanje olova mokraćom neznatno u bubrežnih bolesnika. Snižena koncentracija mangana u plazmi je očekivana s obzirom na pothranjenost bolesnika liječenih hemodijalizom (tab. 4-7).

Izrazito povišene koncentracije toksičnih metala u pojedinih bolesnika liječenih hemodijalizom su uobičajena i očekivana pojava s obzirom na povećanu izloženost (dijalizna otopina) i/ili smanjeno izlučivanje tih metala u završnom stadiju bubrežnog zatajenja. Maksimalna koncentracije aluminija u plazmi (tab. 4-7) izmjerena u ispitnoj skupini je manja od dopuštene koncentracije ($<1,11 \mu\text{mol/L}$) za bolesnike liječene hemodijalizom [235].

Snižena aktivnost pseudokolinesteraze (tab. 4-2) i paraoksonaze (tab. 4-6) u serumu je očekivana s obzirom na povišenu koncentracije proteinskih karbonila, tj. porast oksidacijskog stresa (tab. 4-5) u ispitanika što je u suglasju s rezultatima drugih istraživanja [117,251,252].

Porast oksidacijskog stresa uz pridruženu upalu i anemiju u ispitanika je očekivan u završnom stadiju bubrežne bolesti te može rezultirati poremećajem funkcije endotela krvnih žila i razvojem ateroskleroze [253].

Osobitosti i učinci dijaliznih membrana

Vrsta antianemika i dijalizne membrane značajno utječu na mineralni i antioksidacijski status u bolesnika liječenih hemodijalizom.

U 80 bolesnika dijaliziranih uz uporabu celuloza-triacetatne membrane opažena je smanjena aktivnost pseudokolinesteraze i smanjena koncentracija selena u eritrocitima u usporedbi s 23 bolesnika koji su dijalizirani uz uporabu polisulfonske membrane. Smanjenje aktivnosti pseudokolinesteraze i koncentracije selena može se pripisati porastu oksidacijskog stresa u bolesnika dijaliziranih celuloza-triacetatnom membranom.

Polisulfonska membrana je učinkovitija u uklanjanju visokomolekulskih uremijskih toksina što je u suglasju sa smanjenjem koncentracije β_2 -mikroglobulina u 23 bolesnika dijaliziranih polisulfonskom dijaliznom membranom. Uklanjanje uremijskih toksina se odražava na smanjenje inhibicije pseudokolinesteraze koje rezultira porastom aktivnosti pseudokolinesteraze [244].

Porast pseudokolinesteraze je pozitivno povezan s nutricijskim statusom, odnosno negativno je povezan s razinom oksidacijskog stresa. Aktivnost pseudokolinesteraze je pozitivan pretkazatelj preživljenja u bolesnika liječenih hemodijalizom [254]. Polisulfonska membrana ima stanovite prednosti s obzirom na porast aktivnosti pseudokolinesteraze, porast koncentracije selena u eritrocitima, smanjenje koncentracije kadmija te veću učinkovitost uklanjanja visokomolekulskih uremijskih toksina u usporedbi sa celuloza-triacetatnom membranom.

Učinci primjene antianemika

U kroničnih bubrežnih bolesnika često se susreće nedostatak željeza (poremećaj apsorpcije željeza, gubici krvi, povećane potrebe za željezom tijekom liječenja eritropoetinom). Oksidacijski stres i upala pogoduju razvoju anemije s obzirom da doprinose smanjenju učinkovitosti antianemika, skraćuju vijeka eritrocita te smanjenju raspoloživosti željeza za eritropoezu [255]. Intravenskom primjenom željeza i drugim oblicima liječenja moguće je povećati učinkovitost eritropoetina u liječenju anemije [65].

Liječenje Ferrlecitom značajno utječe na raspoloživost elemenata u tragovima (mangan, kobalt, cink, selen i olovo) [163]. Intravenska primjena pripravaka željeza doprinosi porastu koncentracije ne-transferinskog željeza koje posljedično doprinosi razvoju infekcija, poremećaju imunskog sustava, porastu oksidacijskog stresa, poremećaju funkcije endotela te razvoju ateroskleroze i napredovanju oštećenja bubrega. Neučinkovitost antianemika u liječenju anemije je pretkazatelj razvoja komplikacija i smrtnog ishoda [255].

Rezultati ovog istraživanja upućuju da Ferrlecit značajno utječe na raspoloživost, međudnose i preraspodjelu esencijalnih elemenata u tragovima u eritrocitima, primjerice na odnos cinka s bakrom i kromom (sl. 4-4 i 4-5). Metabolizam bakra, cinka i drugih elemenata u tragovima su međusobno prožeti pa je izgledno da se promjene u metabolizmu jednog elemenata odražavaju na metabolizam ostalih elemenata u tragovima (međusobni utjecaj na apsorpciju, fiziološku funkciju, izlučivanje i drugo). U ovom istraživanju su određivane koncentracije dvanaest elemenata u tragovima u plazmi i eritrocitima kako bi se prepoznali značajni utjecaji statusa elemenata u tragovima na učinkovitost antianemika.

Porast koncentracije kalcija u bolesnika liječenih antianemicima povećava mogućnost stvaranja kalcifikata pa je u tih bolesnika nužno prilagoditi postavke postupka hemodijalize kako bi se spriječilo stvaranje kalcifikata. Porast koncentracije feritina i smanjenje koncentracije transferina u bolesnika liječenih antianemicima su očekivani, međutim porast feritina i smanjenje transferina je ponajprije posljedica upale [249].

U bolesnika dijaliziranih uz uporabu celuloza-triacetatne membrane koji su liječeni samo eritropoetinom (Eprex ili Recormon) ili eritropoetinom i Ferrlecitom je opaženo značajno povećanje koncentracije feritina u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima (sl. 4-2 i 4-3). Koncentracija Feritina se nije značajno razlikovala između podskupina bolesnika liječenih antianemicima s obzirom na vrstu primjenjivanih antianemika (Eprex, Recormon i Ferrlecit).

U bolesnika dijaliziranih uz uporabu polisulfonske membrane nisu opažene značajne razlike koncentracije feritina između bolesnika s obzirom na liječenje antianemicima. Sveukupno, u bolesnika dijaliziranih s *PSM*-om je smanjena koncentracija feritina u usporedbi s bolesnicima dijaliziranim sa *CTM*-om (tab. 4-9).

Feritin u krvnom optoku je antioksidans, posebice feritin s malim sadržajem željeza pa porast feritina ima poželjne antioksidacijske učinke u bolesnika liječenih hemodijalizom [256].

U bolesnika dijaliziranih uz uporabu *CTM*-a koji su liječeni antianemicima je opažena smanjena aktivnost *ESOD*-a u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima, odnosno u bolesnika liječenih Eprexom je opažena smanjena aktivnost *ESOD*-a u usporedbi s bolesnicima koji su liječeni Recormonom.

Aktivnost *ESOD*-a se nije značajno razlikovala između podskupina bolesnika liječenih antianemicima s obzirom na vrstu primjenjivanih antianemika (Eprex, Recormon i Ferrlecit). Međutim, aktivnost *ESOD*-a u bolesnika dijaliziranih s *PSM*-om koji su liječeni antianemicima (Eprex, recormon i Ferrlecit) je smanjena u usporedbi s bolesnicima dijaliziranim sa *CTM*-om koji nisu liječeni antianemicima.

Primjena antianemika i dijaliznih membrana može značajno doprinijeti smanjenju statusa bakra u eritrocitima odnosno smanjenju aktivnosti superoksid-dismutaze u eritrocitima što može rezultirati porastom oksidacijskog stresa.

Značajan porast koncentracije ne-transferinskog željeza u bolesnika liječenih Eprexom upućuje da Eprex potiče porast ne-transferinskog željeza. S obzirom da je Eprex primjenjivan u većim dozama u usporedbi s Recormonom (tab. 4-8) te s obzirom na razlike u ugljikohidratnom sastavu Eprexa spram Recormona izgledno je da liječenje Eprexom može specifično doprinijeti porastu koncentracije ne-transferinskog željeza odnosno smanjenju aktivnosti *ESOD*-a u odnosu na Recormon. Kliničko značenje porasta ne-transferinskog željeza kod primjene Eprexa je izuzetno važno s obzirom na mogućnost planiranja nadomjeska prehrani koji mogu smanjiti štetne učinke slobodnog željeza. Primjerice, prehrana bogata flavonoidima može smanjiti štetne učinke ne-transferinskog željeza s obzirom da flavonoidi keliraju slobodne katione željeza [257]. Međutim, prehrana s velikim sadržajem askorbinske kiseline nije poželjna zbog redukcije trovalentnog željeza u dvovalentni kation koji je reaktant u Fentonovoj reakciji u kojoj se stvaraju reaktivni kisikovi metaboliti [258].

Učinci Ferrlecita neposredno nakon primjene infuzije

Porast zasićenja transferina je izravna posljedica primjene Ferrlecita koja se odražava na porast ne-transferinskog željeza [259]. Porast koncentracije ne-transferinskog željeza u bubrežnih bolesnika koji intavenski primaju željezo je očekivana pojava [260-262]

Porast zasićenja transferina željezom ($\uparrow TSAT$) te značajan porast koncentracije ne-transferinskog željeza ($\uparrow NTFe$) je opažen u ispitanika neposredno nakon primjene infuzije Ferrlecita (tab. 4-12). Porast koncentracije trovalentnog ne-transferinskog željeza, odnosno smanjenje koncentracije dvovalentnog ne-transferinskog željeza se može pripisati učinku primjene Ferrlecita (tab. 4-12). Otpuštanje trovalentnog željeza iz željezovog glukonata (djelatna sastavnica Ferrlecita) i/ili porast oksidacijskog stresa (oksidacija dvovalentnog kationa željeza) rezultiraju višestrukim smanjenjem omjera $NTFe(II)/NTFe(III)$ nakon infuzije Ferrlecita (tab. 4-12) što je u suglasju s rezultatima prijašnjih istraživanja [262].

Porast pokazatelja ne-ceruloplazminskog bakra nakon infuzije Ferrlecita (tab. 4-12) upućuje da Ferrlecit uzrokuje porast slobodnog bakra u bolesnika liječenih hemodijalizom.

Porast slobodnog bakra i željeza u bolesnika liječenih Ferrlecitom pridonosi porastu oksidacijskog stresa [59,263,264]. Nadalje, porast $SSOD$ -a ima zaštitnu ulogu od nepoželjnih učinaka oksidacijskog stresa na krvožilne stijenke budući da $SSOD$ -e povećava raspoloživost dušikovog oksida što rezultira vazodilatacijom [265]. Međutim, porast $SSOD$ -a pokazuje i stanovite prooksidacijske učinke s obzirom da SOD -e katalizira reakciju disproporcioniranja superoksidnog radikala pri čemu se stvara vodikov peroksid koji dopijeva u dublje slojeve krvožilne stijenke [266].

Sveukupni porast aktivnosti antioksidacijskih enzima u plazmi ili eritrocitima (KEs , CPa , $SSOD$, $SGRd$, $ESOD$) nakon primjene Ferrlecita (tab. 4-12) pridonosi obrani od oksidacijskog stresa. Nadalje, porast feritina nakon infuzije Ferrlecita (tab. 4-12) od osobite je važnosti u antioksidacijskoj obrani [256].

Povezanost statusa elemenata u tragovima s aktivnošću antioksidacijskih enzima u eritrocitima

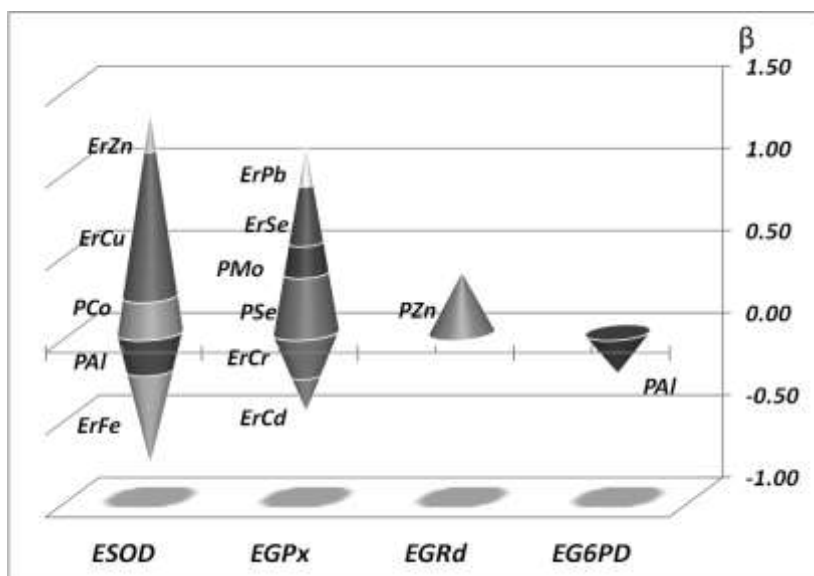
Značajna povezanost između $ESOD$ -a i $ErCu$ -a (tab. 4-13 i sl. 4-7) je u suglasju s dosadašnjim saznanjima prema kojima eritrocitna superoksid-dismutaza slovi kao pouzdan pokazatelj statusa bakra u organizmu [267,268].

Pozitivna povezanost koncentracije PSe i $ErSe$ s aktivnošću $EGPx$ -a (tab. 4-13 i sl. 4-8) je u suglasju s dosadašnjim spoznajama prema kojima aktivnost GPx -a odražava status selena u organizmu budući da je GPx selenoenzim [269].

Porast *EGRd*-a je razmjeran sa statusom cinka (tab. 4-13) pa je izgledno da nadomjestak cinka u bolesnika liječenih hemodijalizom rezultira porastom aktivnosti *EGRd*-a.

Promjene statusa i međudnosa između elemenata u tragovima se odražavaju na aktivnost antioksidacijskih enzima u eritrocitima (sl. 5-1). S obzirom na smanjenu biološku raspoloživost (tab. 4-11) cinka i selena (*PZn* i *PSe*) uputno je razmotriti dobrobiti nadomjeska selena i cinka u bolesnika liječenih hemodijalizom. Utvrđi li se nedostatak bakra u bolesnika liječenih hemodijalizom potrebno je uključiti nadomjestak za bakar. Uravnoteženje statusa esencijalnih elemenata osigurava primjerenu funkciju antioksidacijskog sustava obrane. Nadalje, s obzirom na povećanu izloženost toksičnim metalima aluminiju i kromu potrebno je smanjiti izloženost tim metalima što posljedično rezultira porastom aktivnosti antioksidacijskih enzima (sl. 5-1).

Prema rezultatima istraživanja koje su objavili Shainkin i suradnici [270] aluminij inhibira aktivnost superoksid-dismutaze. Prema rezultatima istraživanja koje su objavili Zeman i suradnici [271] aluminij inhibira glukoza-6-fosfat-dehidrogenazu u eritrocitima štakora što je u suglasju s našim opažanjima prema kojima aluminij smanjuje aktivnost *ESOD*-a i *EG6PD*-a.

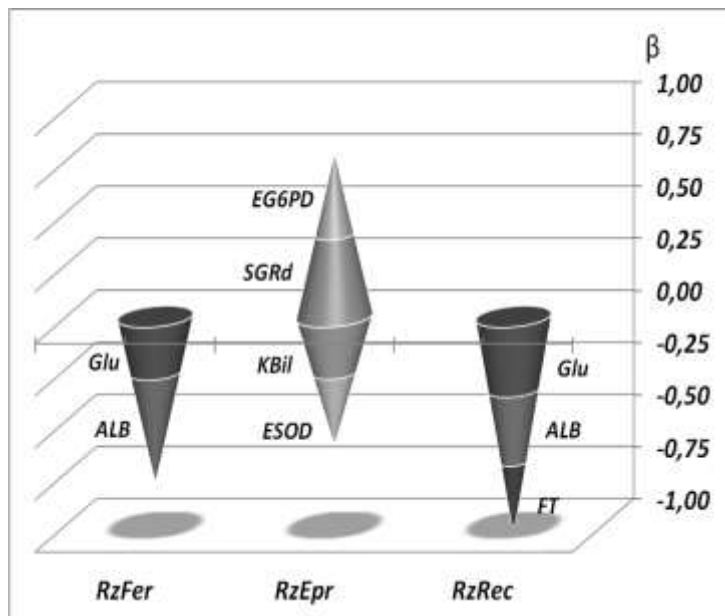


Slika 5-1. Kumulativni doprinos povezanosti elemenata u tragovima i aktivnosti antioksidacijskih enzima u eritrocitima (*ESOD*, *EGPx*, *EGRd* i *EG6PD*).

β – parcijalni koeficijent višestruke linearne regresije; *ESOD* – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u eritrocitima; *EGPx* – glutation-peroksidaza u eritrocitima; *EGRd* – glutation-reduktaza u eritrocitima; *G6PD* - glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza u eritrocitima.

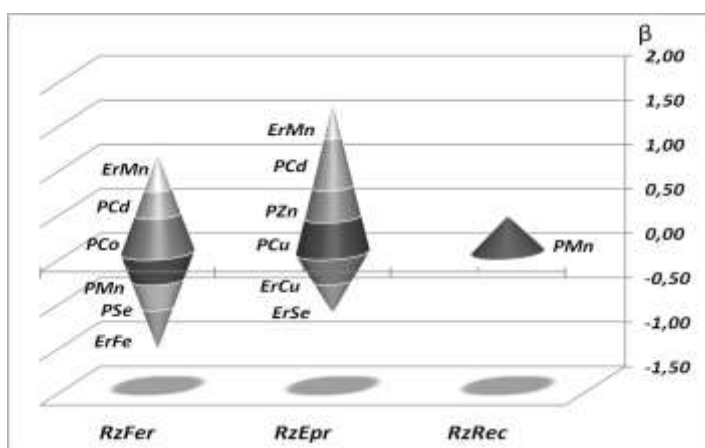
Povezanost učinkovitosti antianemika s antioksidacijskim i mineralnim statusom

Pokazatelji nutritivnog statusa (albumin) i/ili antioksidacijskog statusa (ferritin, *ESOD* i selen) su pozitivni pretkazatelji učinkovitosti antianemika (sl. 5-2 i 5-3).



Slika 5-2. Kumulativni doprinos povezanosti enzimskih i ne-enzimskih antioksidansa u plazmi i eritrocitima na učinkovitost antianemika u liječenju anemije (*RzFer*, *RzEpr* i *RzRec*).

β – parcijalni koeficijent višestruke linearne regresije; *RzFer* - pokazatelj rezistencije na Ferrlecit (53 ispitanika); *RzEpr* - pokazatelj rezistencije na Eprex (38 ispitanika); *RzRec* - pokazatelj rezistencije na Recormon (52 ispitanika).



Slika 5-3. Kumulativni doprinos povezanosti statusa elemenata u tragovima u plazmi i eritrocitima na učinkovitost antianemika u liječenju anemije (*RzFer*, *RzEpr* i *RzRec*).

β – parcijalni koeficijent višestruke linearne regresije; *RzFer* - pokazatelj rezistencije na Ferrlecit (53 ispitanika); *RzEpr* - pokazatelj rezistencije na Eprex (38 ispitanika); *RzRec* - pokazatelj rezistencije na Recormon (52 ispitanika).

Porast količinskog omjera mangana između eritrocita i plazme upućuje na pothranjenost, a porast koncentracije mangana u eritrocitima doprinosi neučinkovitosti Ferrlecita i Eprexa (sl. 5-3). Smanjenje količinskog omjera između bakra u eritrocitima i plazmi upućuje na upalu, a smanjenje koncentracije bakra i smanjenje aktivnosti superoksid-dismutaze u eritrocitima doprinosi neučinkovitosti Eprexa (sl. 5-2 i 5-3). Promjene statusa mangana i bakra u upali i pothranjenosti su povezane s učinkovitošću Eprexa.

U bolesnika s izraženom neučinkovitošću antianemika je uputno razmotriti utjecaj pothranjenosti, upale ili nedostatka selena. Primjerenom prehranom, liječenjem upalnih bolesti i nadoknadom selena moguće je povećati učinkovitost antianemika što je od osobite važnosti zbog smanjenja troškova liječenja i produljenja životnog vijeka tih bolesnika. S obzirom na povećanu neučinkovitost Eprexa i porast ne-transferinskog željeza te smanjenje aktivnosti *ESOD* u bolesnika liječenih Eprexom uputno je razmotriti prednosti drugih eritropoetina u liječenju anemije, primjerice Recormona.

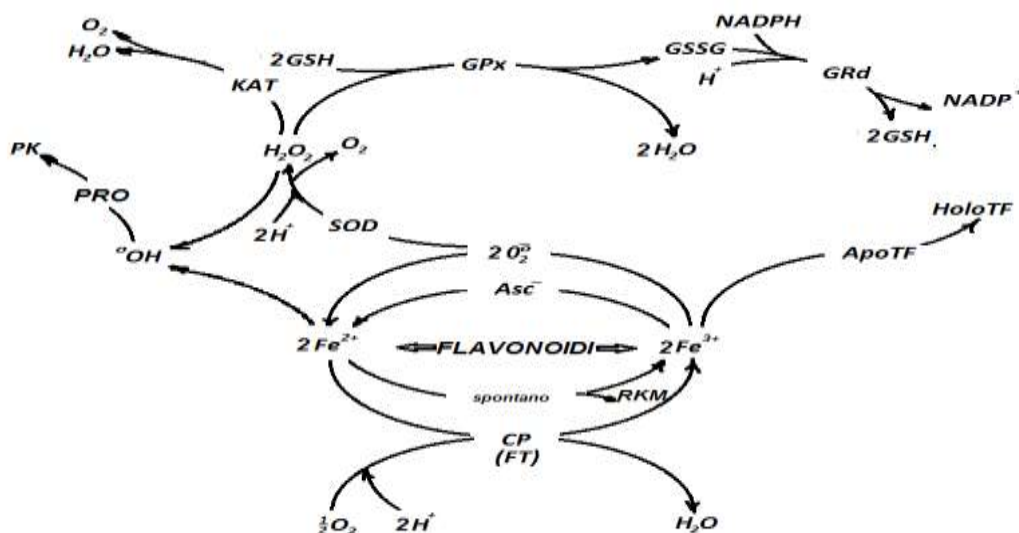
S obzirom na opaženo smanjenje učinkovitosti Ferrlecita kod izloženosti kadmiju (sl. 5-3) uputno je savjetovati bolesnike da izbjegavaju izloženost kadmiju, odnosno uputiti pušače na potrebu odvikavanja od pušenja (najučestalija neprofesionalna izloženost kadmiju je udisanje cigaretnog dima – aktivno ili pasivno pušenje duhanskih proizvoda).

Kadmij uzrokuje anemiju s obzirom da potiče hemolizu, utječe na metabolizam željeza i smanjuje stvaranje endogenog eritropoetina [272] što je u suglasju sa smanjenjem učinkovitosti antianemika (Ferrlecit i Eprex) s porastom koncentracije kadmija u plazmi ispitanika (sl. 5-3).

Međuodnos prooksidacijskih i antioksidacijskih čimbenika u bolesnika liječenih Ferrleцитom i eritropoetinom

Specifična feroksidazna aktivnost ceruloplazmina (*SCP*) se odražava na odnos između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza s obzirom da ceruloplazmin katalizira oksidaciju dvovalentnog željeza što rezultira vezanjem trovalentnog željeza na apotransferin pri čemu se smanjuje koncentracija ne-transferinskog željeza [74]. U ispitanika liječenih Ferrleцитom i eritropoetinom je opažena negativna povezanost specifične aktivnosti ceruloplazmina s koncentracijom ukupnog ne-transferinskog željeza i proteinskih karbonila (tab.4-16 i sl. 5-4) pa porast koncentracije bakra uz pridruženi porast specifične feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina očekivano pridonosi smanjenju oksidacijskog stresa u bolesnika liječenih Ferrleцитom i eritropoetinom.

Feroksidazna aktivnost ceruloplazmina i aktivnost superoksid-dismutaze u serumu su izravno povezane sa statusom bakra pa je izgledno da porast pokazatelja bakara u plazmi značajno doprinosi obrani od oksidacijskog stresa. Ceruloplazmin (porast brzine oksidacije dvovalentnog željeza) i superoksid-dismutaza (smanjena dostupnost superoksidnog radikala za redukciju trovalentnog željeza) združenim djelovanjem smanjuju količinu dvovalentnog ne-transferinskog željeza u serumu (sl. 5-4). Porast omjera *SSOD/SGRd* je pozitivno povezan s oksidacijskim stresom (proteinski karbonili) što se može pripisati prilagodbenom odgovoru organizma na oksidacijski stres. Nadalje, omjer *SSOD/SGRd* je pozitivno povezan s koncentracijom trovalentnog ne-transferinskog željeza odnosno *SSOD/SGRd* je obrnuto razmjerno povezan s koncentracijom dvovalentnog ne-transferinskog željeza. Porast omjera *SSOD/SGRd* omogućuje učinkovitije uklanjanje superoksidnog radikala pa time sprječava redukciju trovalentnog željeza. Porast koncentracije trovalentnog i smanjenje koncentracije dvovalentnog ne-transferinskog željeza s porastom omjera *SSOD/SGRd* je očekivano. Pokazatelji statusa bakra u eritrocitima nisu značajno povezani s pokazateljima statusa bakra u plazmi što se djelomično može pripisati učincima upale na preraspodjelu bakra između plazme i eritrocita (sl. 4-9). Nesklad između pokazatelja statusa bakra u plazmi i eritrocitima u bolesnika liječenih hemodijalizom su opisali Emenaker i suradnici [273].



Slika 5-4. Oksido-redukcijske reakcije u metabolizmu željeza i reaktivnih kisikovih metabolita.

Asc⁻ - askorbat; **FT** – feritin; **ApoTF** – apotransferin; **HoloTF** – holotransferin; **GPx** - glutation-peroksidaza; **GRd** - glutation-reduktaza; **GSH** - reducirani glutation; **GSSG** - oksidirani glutation; **CP** – ceruloplazmin; **KAT** – katalaza; **NADP(H)** - nikotinamid-adenin-dinukleotid fosfat; **PK** - proteinski karbonili; **PRO** – protein; **SOD** - superoksid-dismutaza; **RKM** - reaktivni kisikovi metaboliti.

Pozitivna povezanost (tab. 4-17; sl. 5-5) pokazatelja oksidacijskog stresa i trovalentnog ne-transferinskog željeza u ispitanika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom je očekivana budući

da prooksidacijsko okružje pogoduje neselektivnoj oksidaciji brojnih supstrata; primjerice, oksidaciji proteina u proteinske karbonile odnosno divalentnog željeza u trovalentno željezo.

Opažena povezanost porasta aktivnosti *SSOD*-a s porastom koncentracije trovalentnog ne-transferinskog željeza se može pripisati prilagodbenom odgovoru. Porast aktivnosti *SSOD*-a pridonosi ubrzanom uklanjanju superoksidnog radikala (potencijalni reducens) što usporava redukciju trovalentnog željeza. Usporavanje redukcije trovalentnog željeza sprječava reakciju između divalentnog željeza i vodikovog peroksida (Fentonova reakcija) u kojoj se stvara hidroksilni radikal. U reakciji hidroksilnog radikala s proteinima se stvaraju proteinski karbonili.

Pozitivna povezanost *SSOD*-a s pokazateljima oksidacijskog stresa i upale je očekivana s obzirom da je izražaj gena za *SOD* pod nadzorom sustava transkripcijskog čimbenika *NF-κB* koji istodobno regulira i sintezu medijatora upale i oksidacijskog stresa [75].

U bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom aktivnost *SSOD*-a je negativno povezana s pokazateljima nutritivnog statusa, odnosno aktivnost *SSOD*-a je pozitivno povezana s koncentracijom proteinskih karbonila (oksidacijski stres) što je sukladno rezultatima istraživanja u kojemu je opisana negativna povezanost aktivnosti Cu,Zn-superoksid-dismutaze u serumu s indeksom tjelesne mase, koncentracijom triglicerida i glukoze; odnosno u kojemu se porast aktivnosti Cu,Zn-superoksid-dismutaze u serumu pripisuje oksidacijskom stresu i stvaranju aterosklerotskog plaka [274]. Brojna druga istraživanja također nalaze podudarne povezanosti [275,276]. U aterosklerotskim plakovima je povišena aktivnost *EC-SOD*-a koja uglavnom potječe iz makrofaga, posebice pjenastih stanica. Porast aktivnosti *EC-SOD*-a uzrokuje porast vodikovog peroksida (stabilni oksidans) koji potiče hipertrofiju glatkog mišićja u stijenci krvnih žila te uzrokuje promjene aktivnosti matriksnih metaloproteinaza pa je izgledno da porast aktivnosti *EC-SOD*-a narušava stabilnost aterosklerotskog plaka [266].

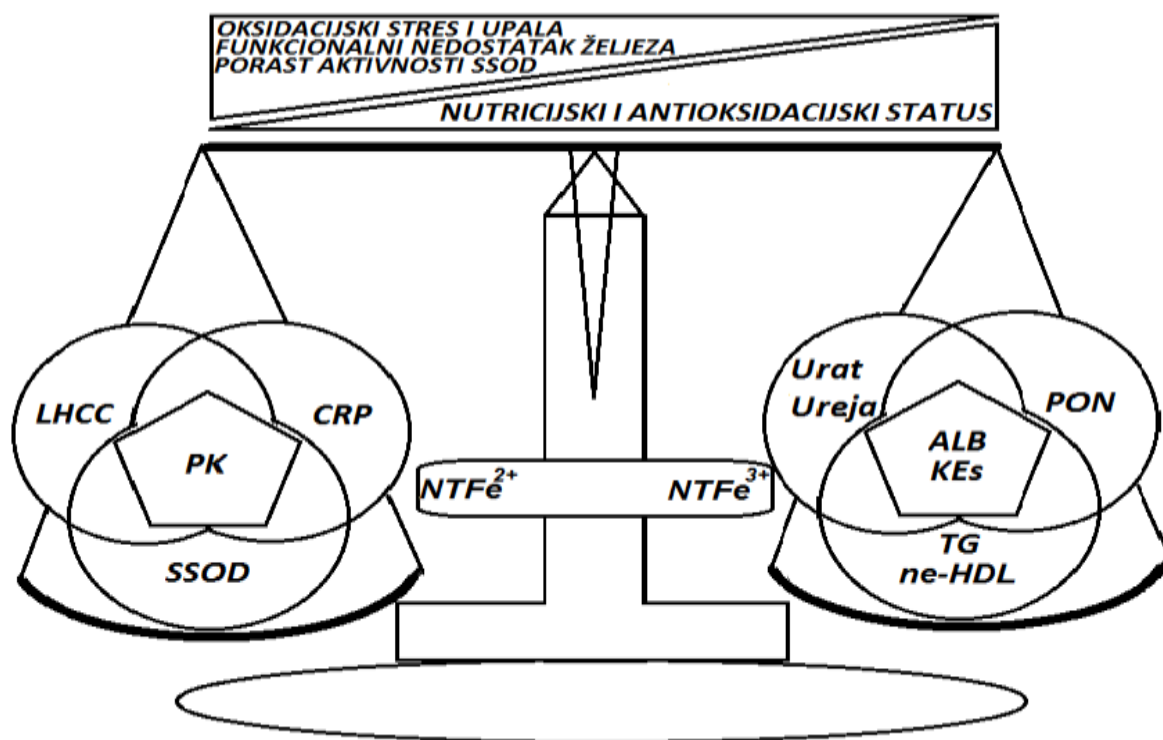
Proaterogeni lipoproteini u plazmi vežu ne-transferinsko željezo tako da ne-transferinsko željezo postaje nedostupno za Fentonovu reakciju pa suvišak proaterogenih lipoproteina ima antioksidacijski učinak što je u suglasju s teorijom „reverzne epidemiologije“ prema kojoj porast kolesterola i drugih proaterogenih čimbenika smanjuju rizik od krvožilnih bolesti u hemodijaliziranih bolesnika s obzirom na smanjenje razine oksidacijskog stresa što je u suglasju s rezultatima ovog istraživanja [149].

Na lijevoj zdjelici „vage“ (sl. 5-5), *SSOD*-e je neočekivano pridružen skupini nepovoljnih čimbenika koji potiču razvoj ateroskleroze i brojnih pridruženih bolesti pa se otvara pregršt

pitanja. Ima li *SSOD*-e isključivo zaštitnu ulogu ili pridonosi razvoju ateroskleroze? Je li porast aktivnosti *SSOD*-a isključivo prilagodbeni odgovor organizma na porast oksidacijskog stresa, upalu i funkcionalni nedostatak željeza? Koje su neželjene posljedice porasta *SSOD*-a? No ova pitanja otvaraju vrata u jedno novo istraživanje koje bi trebalo razjasniti ulogu serumske superoksid-dismutaze u razvoju i napredovanju ateroskleroze.

S desne strane „vage“ su se grupirali pokazatelji koji upućuju na primjerenost nutritivnog i antioksidacijskog statusa. Porast tih čimbenika je izgledna protuteža oksidacijskom stresu, upali i funkcionalnom nedostatku željeza pa su ti čimbenici pozitivni pretkazatelji preživljenja u bolesnika liječenih hemodijalizom. Je li onda *SSOD*-e negativni pretkazatelj za razvoj brojnih komplikacija?

Odgovarajuća ravnoteža pobrojanih čimbenika je nužna za održavanje ravnotežnog odnosa između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza. S obzirom da primjena Ferrlecita pridonosi oksidacijskom stresu uputno je nadomjesno liječenje i način prehrane temeljiti na unapređenju nutritivnog i antioksidacijskog statusa.



Slika 5-5. Utjecaj međudnosa funkcionalnog nedostatka željeza, upale, oksidacijskog stresa i aktivnosti *SSOD*-a s pokazateljima nutritivnog i/ili antioksidacijskog statusa u 53 bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom.

LHCC – udio hipokromnih eritrocita, *NTFe(II)* – dvovalentno ne-transferinsko željezo; *NTFe(III)* – trovalentno ne-transferinsko željezo; *PK* – proteinski karbonili; *CRP* – C-reaktivni protein; *Ur* – ureja; *Urat* – mokraćna kiselina; *TG* – trigliceridi; *ne-HDL* – ne-HDL-kolesterol; *ALB* – albumin; *KEs* – pseudokolinesteraza; *PON* – bazalna aktivnost paraoksonaze; *SSOD* – Cu,Zn-superoksid-dismutaza u serumu.

6. ZAKLJUČCI

Promjene antioksidacijskog i/ili mineralnog statusa uzrokovane bubrežnom bolešću i hemodijalizom uz pridruženu anemiju, upalu i pothranjenost pogoduju porastu oksidacijskog stresa i razvoju krvožilnih komplikacija (ateroskleroza) u bolesnika liječenih hemodijalizom.

U ispitivanoj skupini bolesnika liječenih hemodijalizom opaženo je sljedeće:

- ✓ Funkcionalni nedostatak željeza te promjene hematoloških pokazatelja upućuju na anemiju kronične bubrežne bolesti.
- ✓ Porast **CRP**-a i proteina akutne faze uz hipoalbuminemiju upućuju na upalu.
- ✓ Smanjenje koncentracije albumina u upali i pothranjenosti se odražava na smanjenje koncentracije esencijalnih elemenata u tragovima (selen, cink i mangan). Status esencijalnih elemenata u tragovima se značajno odražava na aktivnost antioksidacijskih enzima u eritrocitima: porast koncentracije cinka u plazmi je povezan s porastom aktivnosti glutation-reduktaze u eritrocitima, porast koncentracije selena u plazmi i/ili eritrocitima je povezan s porastom aktivnosti glutation-peroksidaze u eritrocitima, a porast koncentracije bakra i cinka u eritrocitima je povezan s porastom aktivnosti superoksid-dismutaze u eritrocitima.
- ✓ Izloženost toksičnim metalima (nikal, krom i olovo) te povezanost porasta koncentracije aluminija u plazmi sa smanjenjem aktivnosti superoksid-dismutaze i glukoza-6-fosfat-dehidrogenaze u eritrocitima odnosno porast koncentracija kadmija i kroma u eritrocitima su povezani sa smanjenjem aktivnosti glutation-peroksidaze u eritrocitima.
- ✓ Snižena aktivnost pseudokolinesteraze i paraoksonaze te povišena koncentracija proteinskih karbonila upućuje na porast oksidacijskog stresa.

Dijalizna membrana utječe na metabolizam elemenata u tragovima, odnosno na antioksidacijski status.

Polisulfonske membrane imaju stanovite prednosti naspram celuloza-triacetatne membrane s obzirom na porast aktivnosti pseudokolinesteraze, porast koncentracije selena u eritrocitima, smanjenje koncentracije β_2 -mikroglobulina i kadmija u plazmi bolesnika dijaliziranih polisulfonskom membranom.

Primjena antianemika značajno utječe na status i međuodnose elemenata u tragovima, odnosno na antioksidacijski sustav obrane te porast oksidacijskog stresa.

Smanjenje koncentracije bakra u eritrocitima i smanjenje količinskog omjera između bakra i cinka u eritrocitima se odražava na smanjenje aktivnosti eritrocitne superoksid-dismutaze u bolesnika liječenih antianemicima. U bolesnika liječenih Eprexom je nađen porast koncentracije ukupnog ne-transferinskog željeza.

Neposredno nakon infuzije Ferrlecita je nađen porast koncentracije ukupnog i ne-ceruloplazmanskog bakra, ukupnog i ne-transferinskog željeza odnosno porast aktivnosti

antioksidacijskih enzima u plazmi (*KEs*, *SSOD* i *SGRd*) i eritrocitima (*ESOD*) te porast koncentracije feritina.

Porast feroksidazne aktivnosti ceruloplazmina nakon infuzije Ferrlecita doprinosi oksidaciji dvovalentnog ne-transferinskog željeza što rezultira višestrukim smanjenjem omjera između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza.

Upala i pothranjenost, odnosno status elemenata u tragovima su ključni čimbenici koji doprinose neučinkovitosti antianemika u liječenju anemije.

Nutricijski i/ili antioksidacijski status (porast koncentracije albumina i selena u plazmi) je pozitivno povezan s učinkovitošću Ferrlecita, porast koncentracije selena je pozitivno povezan s učinkovitošću Eprexa, a porast koncentracije albumina je pozitivno povezan s učinkovitošću Recormona u liječenju anemije. Porast koncentracije kadmija je povezan sa smanjenjem učinkovitosti Ferrlecita i Eprexa u liječenju anemije.

Oksidacijski stres, upala, funkcionalni nedostatak željeza, antioksidacijski i nutritivni status se odražavaju na koncentraciju dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza.

Porast koncentracije proteinskih karbonila uz pridruženi porast aktivnosti superoksid-dismutaze te upala i funkcionalni nedostatak željeza doprinose porastu koncentracije trovalentnog ne-transferinskog željeza. Nadalje, porast koncentracije albumina i aktivnosti pseudokolinesteraze uz pridruženi porast aktivnosti paraoksonaze, te porast koncentracije neproteinskih dušikovih spojeva i pokazatelja lipidnog statusa doprinose porastu koncentracije dvovalentnog ne-transferinskog željeza u ispitanika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom. Specifična feroksidazna aktivnost ceruloplazmina je obrnuto razmjerno povezana s koncentracijom ne-transferinskog željeza i proteinskih karbonila.

Status cinka, selena i bakra značajno se odražava na učinkovitost antioksidacijskog sustava obrane pa je u slučaju nedostatka ovih elemenata potrebno iste nadomjestiti.

Primjena antianemika u kroničnom bubrežnom zatajenju je nužna u liječenju anemije. Postizanje primjerene učinkovitosti antianemika uz primjenu što manjih doza postaje imperativ i izazov svakom kliničaru kako zbog skupoće liječenja, tako i radi sprječavanja neželjenih učinaka antianemika koji su učestaliji kod primjene većih doza antianemika odnosno kod bolesnika sa razvijenom rezistencijom na liječenje anemije antianemicima. Poremećaji antioksidacijskog i mineralnog statusa kod primjene Ferrlecita se povezuju s razvojem krvožilnih komplikacija u bolesnika liječenih hemodijalizom.

7. LITERATURA

1. Štraus B, Čvorišćec D. Funkcija Bubrege. U: Čvorišćec D, Čepelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009:472-503.
2. Newman DJ, Price CP. Renal Function. U: Burtis CA, Ashwood ER, ur. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 5. Izd. St. Louis: Elsevier Saunders, 2001:698-722
3. Štraus B, Dodig S. Voda i elektroliti. U: Čvorišćec D, Čepelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009:55-82.
4. Guyton AC, Hall JE, ur. Medicinska fiziologija. 10. Izd. Zagreb, Hrvatska: Medicinska naklada, 2003.
5. European Best Practice Guidelines Expert Group on Hemodialysis, European Renal Association. Section I. Measurement of renal function, when to refer and when to start dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;**17**(Suppl 7):7-15.
6. Kos P. Hemodijaliza: prošlost i sadašnjost. *Medicus* 2001;**10**:269-282.
7. Čepelak I, Štraus B. Bolesti bubrege. U: Čepelak I, Štraus B, Dodig S, Labar B, ur. Medicinsko-biokemijske smjernice. Zagreb: Medicinska naklada, 2004:69-88.
8. Ronco C, Cruz DN, ur. Hemodialysis – From Basic Research to Clinical Trials. 1. Izd. Basel, Switzerland: Karger, 2008.
9. Cheung AK, Rocco MV, Yan G, Leypoldt JK, Levin NW, Greene T, Agodoa L, Bailey J, Beck GJ, Clark W, Levey AS, Ornt DB, Schulman G, Schwab S, Teehan B, Eknoyan G. Serum beta-2 microglobulin levels predict mortality in dialysis patients: results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol* 2006;**17**:546-555.
10. Leypoldt JK, Cheung AK, Deeter RB. Rebound kinetics of β 2-microglobulin after hemodialysis. *Kidney Int* 1999;**56**:1571-1577.
11. Miyata T, Jodoul M, Kurokawa K, van Ypersele de Strihu C. β -2 microglobulin in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998;**9**:1723-1735.
12. Miyata T, Oda O, Inagi R, Iida Y, Araki N, Yamada N, Horiuchi S, Taniguchi N, Maeda K, Kinoshita T. Beta 2-Microglobulin modified with advanced glycation end products is a major component of hemodialysis-associated amyloidosis. *J Clin Invest* 1993;**92**:1243-1252.
13. Anraku M, Kitamura K, Shinohara A, Adachi M, Suenaga A, Maruyama T, Miyanaka K, Miyoshi T, Shiraishi N, Nonoguchi H, Otagiri M, Tomita K. Intravenous iron administration induces oxidation of serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004;**66**:841-848.
14. Hayat A. Safety issues with intravenous iron products in the management of anemia in chronic kidney disease. *Clin Med Res* 2008;**6**:93-102.
15. Michelis R, Sela S, Kristal B. Intravenous iron-gluconate during haemodialysis modifies plasma β 2-microglobulin properties and levels. *Nephrol Dial Transplant* 2005;**20**:1963-1969.
16. Schrier RW, ur. Diseases of the Kidney & Urinary Tract. 8. izd. London: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

17. Dugirdas JT, Blake PG, Ing TS, ur. Handbook of dialysis. 3. Izd. Philadelphia, SAD:Lippincott Williams&Wilkins,2000.
18. Qian M, Liu M, Eaton JW. Transition metals bind to glycated proteins forming redox active “glyochelates”: Implication for the pathogenesis of certain diabetic complications. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;**250**:385-389.
19. Ahmadpoor P, Eftekhari E, Nourooz-Zadeh J, Servat H, Makhdoomi K, Ghafari A. Glutathione, Glutathione-Related Enzymes, and Total Antioxidant Capacity in Patients on Maintenance Dialysis. *Iran J Kidney Dis* 2009;**3**:22-27.
20. Šefer S, Juranko V, Kes P, Degoricija V. Perioperative management of patients with chronic renal failure. *Acta Clin Croat* 2004;**43**:397-415.
21. Prado M, Roa LM, Palma A, Milan JA. Double target comparison of blood-side methods for measuring the hemodialysis dose. *Kidney Int* 2005;**68**:2863-2878.
22. Jindal K, Chan CT, Deziel C, Hirsch D, Soroka SD, Tonelli M, Culleton BF. Hemodialysis clinical practice guidelines for the Canadian Society of Nephrology. *J Am Soc Nephrol* 2006;**17**(Suppl.1):1-27.
23. Morton AR, Singer MA. The problem with Kt/V: Dialysis dose should be normalized to metabolic rate not volume. *Semin Dial* 2007;**20**:12-15.
24. Ward RA, Ouseph R, McLeish KR. Effects of high-flux hemodialysis on oxidant stress. *Kidney Int* 2003;**63**:353-359.
25. Clark WR, Gao D. Properties of membranes used for hemodialysis therapy. *Semin Dial* 2002;**15**:191-195.
26. Olafiranye F, Kyaw W, Olafiranye O. Resolution of dialyser membrane-associated thrombocytopenia with use of cellulose triacetate membrane: A case report. *Case Report Med* 2011;**2011**:134295-134297.
27. Loria V, Dato I, Graziani F, Biasucci LM. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm* 2008;**2008**:135625.
28. Honda H, Ueda M, Kojima S, Mashiba S, Hirai Y, Hosaka N, Suzuki H, Mukai M, Watanabe M, Takahashi K, Shishido K, Akizawa T. Assessment of myeloperoxidase and oxidative alpha1-antitrypsin in patients on hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;**4**:142-51
29. Fouque D, Vennegoor M, ter Wee P, Wanner C, Basci A, Canaud B, Haage P, Konner K, Kooman J, Martin-Malo A, Pedrini L, Pizzarelli F, Tattersall J, Tordoir J, Vanholder R. EBPG guideline on nutrition. *Nephrol Dial Transplant* 2007;**22**(Suppl.2):45-87.
30. Kondrup J, Allison SP, Elia M, Vellas B, Plauth M; Educational and Clinical Practice Committee, European Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ESPEN). ESPEN guidelines for nutrition screening 2002. *Clin Nutr* 2003;**22**:415-421.
31. Drüeke TB. Renal osteodystrophy: management of hyperphosphataemia. *Nephrol Dial Transplant* 2000;**15**(Suppl.5):32-3.
32. MedicineNet (2007) Renal osteodystrophy causes, symptoms, diagnosis, and treatment information on MedicineNet. Dostupno na:
<http://www.medicinenet.com/script/art.asp?articlekey=433> [1. siječnja 2011].

33. Silver J. Molecular mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 2000;**15**(Suppl.5):2-7.
34. Čepelak I. Funkcija koštanog sustava. U: Čvorišćec D, Čepelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009:504-516.
35. Arici M, Kahraman S, Gençtoy G, Altun B, Kalyoncu U, Oto A, Kirazli S, Erdem Y, Yasavul U, Turgan C. Association of mineral metabolism with an increase in cellular adhesion molecules: another link to cardiovascular risk in maintenance haemodialysis? *Nephrol Dial Transplant* 2006;**21**:999-1005.
36. Schwarz S, Trivedi BK, Kalantar-Zadeh K, Covesdy CP. Association of disorders in mineral metabolism with progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;**1**:825-831.
37. Brancaccio D, Tetta C, Gallieni M, Panichi V. Inflammation, CRP, calcium overload and high calcium-phosphate product: A "liaison dangereuse". *Nephrol Dial Transplant* 2002;**17**:201-203.
38. Oakes EJ, Lyon TD, Duncan A, Gray A, Talwar D, O'Reilly DS. Acute inflammatory response does not affect erythrocyte concentrations of copper, zinc and selenium. *Clin Nutr* 2008;**27**:115-20.
39. Shenkin A. Basic in clinical nutrition: Trace elements and vitamins in parenteral and enteral nutrition. *E-SPEN, Eur e-J Clin Nutr Metab* 2008;**3**:293-297.
40. Ari E, Kaya Y, Demir H, Asicioglu E, Keskin S. The correlation of serum trace elements and heavy metals with carotid artery atherosclerosis in maintenance hemodialysis patients. *Biol Trace Elem Res* 2011;**144**:351-359.
41. Hambidge M. Biomarkers of trace mineral intake and status. *J Nutr* 2003;**133**(Suppl.3):948-955.
42. Kiziltas H, Ekin S, Erkoc R. Trace element status of chronic renal patients undergoing hemodialysis. *Biol Trace Elem Res* 2008;**124**:103-109.
43. Miura Y, Nakai K, Suwabe A, Sera K. Trace elements in renal disease and hemodialysis. *Nucl Instrum Methods Phys Res B* 2002;**189**:443-449.
44. Covic A, Gusbeth-Tatomir P. Trace elements in end-stage renal disease – unfamiliar territory to be revealed. *BMC Nephrol* 2009;**10**:12-14.
45. Vanholder R, Cornelis R, Dhondt A, Lameire N. The role of trace elements in uraemic toxicity. *Nephrol Dial Transplant* 2002;**17**(Suppl.2):2-8.
46. Tonelli M, Wiebe N, Hemmelgarn B, Klarenbach S, Field C, Manns B, Thadhani R, Gill J. Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2009;**7**:25-36.
47. Rucker D, Thadhani R, Tonelli M. Trace element status in hemodialysis patients. *Semin Dial* 2010;**23**:389-395.
48. Kaya Y, Ari E, Demir H, Gecit I, Beytur A, Kaspar C(2011) Serum cadmium levels are independently associated with endothelial function in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2011; Dostupno na:

<http://www.springerlink.com/content/g7722552n7138870/fulltext.pdf> [20. studeni 2011].

49. Sue YM, Lee JY, Wang MC, Lin TK, Sung JM, Huang JJ. Generalized argyria in two chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001 ;**37**:1048-1051.
50. Sandstead HH. Trace elements in uremia and hemodialysis. *Am J Clin Nutr* 1980;**33**:1501-1508.
51. Shenkin A. Basic in clinical nutrition: Physiological function and deficiency states of vitamins. *E-SPEN, Eur e-J Clin Nutr Metab* 2008;**3**:275-280.
52. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, Clark W, Cohen G, De Deyn PP, Deppisch R, Descamps-Latscha B, Henle T, Jörres A, Lemke HD, Massy ZA, Passlick-Deetjen J, Rodriguez M, Stegmayr B, Stenvinkel P, Tetta C, Wanner C, Zidek W. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003;**63**:1934-1943.
53. Boure T, Vanholder R. Biochemical and clinical evidence for Uremic toxicity. *Artif Organs* 2004;**28**:248-253.
54. Meert N, Schepers E, De Smet R, Argiles A, Cohen G, Deppisch R, Drüeke T, Massy Z, Spasovski G, Stegmayr B, Zidek W, Jankowski J, Vanholder R. Inconsistency of reported uremic toxin concentrations. *Artif Organs* 2007;**31**:600-611.
55. Vanholder R, van Laecke S, Glorieux G. What is new in uremic toxicity. *Pediatr Nephrol* 2008;**23**:1211-1221.
56. Gamulin S, Marušić M, ur. Patofiziologija 4. Izd. Zagreb, Hrvatska, Medicinska naklada, 1998.
57. Tobli J, Silverberg D, ur. Cardio-Renal Anemia Syndrome 1. Izd. Buenos Aries, Argentina, Publicaciones Latinoamericanas SLR, 2008.
58. Yin H, Blanchard KL. DNA methylation represses the expression of the human erythropoietin gene by two different mechanisms. *Blood* 2000;**95**:111-119.
59. Valko M, Morris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005;**12**:1161-1208.
60. Besarab A, Amin N, Ahsan M, Vogel SE, Zazuwa G, Frinak S, Zazra JJ, Anandan JV, Gupta A. Optimization of epoetin therapy with intravenous iron therapy in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2000;**11**:530-538.
61. Regidor DL, Kopple JD, Kovesdy CP, Kilpatrick RD, McAllister CJ, Aronovitz J, Greenland S, Kalantar-Zadeh K. Associations between changes in hemoglobin and administered erythropoiesis-stimulating agent and survival in hemodialysis patients. *Am Soc Nephrol* 2006;**17**:1181-1191.
62. Jelkmann W. Recombinant EPO production--points the nephrologist should know. *Nephrol Dial Transplant* 2007;**22**:2749-2753.
63. Drueke T. Hyporesponsiveness to recombinant human erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2001;**16**(Suppl.7):25-28.
64. Johnson DW, Pollock CA, MacDougall IC. Erythropoiesis-stimulating agent hyporesponsiveness. *Nephrology (Carlton)* 2007;**12**:321-330.

65. Kwack C, Balakrishnan VS. Managing erythropoietin hyporesponsiveness. *Semin Dial* 2006;**19**:146-151.
66. Eschbach JW. Iron requirements in erythropoietin therapy. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;**18**:347-361.
67. Weiss G, Meusburger E, Radacher G, Garimorth K, Neyer U, Mayer G. Effect of iron treatment on circulating cytokine levels in ESRD patients receiving recombinant human erythropoietin. *Kidney Int* 2003;**64**:572-578.
68. Fishbane S, Kalantar-Zadeh K, Nissenson AR. Serum ferritin in chronic kidney disease: Reconsidering the upper limit for iron treatment. *Semin Dial* 2004;**17**:336-341.
69. Kalantar-Zadeh K, Regidor DL, McAllister JC, Michael B, Warnock DG. Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;**16**:3070-3080.
70. National Kidney Foundation K/DOQI (2006) Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations 2006 Updates. Dostupno na: <http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines> [1. prosinca 2010].
71. Horl WH, Vanrenterghem Y. Optimal treatment of renal anaemia (OPTA): Improving the efficacy and efficiency of renal anaemia therapy in haemodialysis patients receiving intravenous epoetin. *Nephrol Dial Transplant* 2005;**20**(Suppl.3):25-32.
72. Horl WH, Macdougall IC, Rossert J, Schaefer RM. OPTA-therapy with iron and erythropoiesis-stimulating agents in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2007;**22**(Suppl.3):2-6.
73. Rambod M, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Combined high serum ferritin and low iron saturation in hemodialysis patients: The role of inflammation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;**3**:1691-1701.
74. Crichton R, ur. *Iron Metabolism – From Molecular Mechanisms to Clinical Consequences* 3. Izd. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, 2009.
75. Young-Joon Surh, Lester Packer, ur. *Oxidative stress, inflammation, and health*. 1. Izd. SAD:Taylor & Francis, 2005.
76. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Tesler J. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;**39**:44-84.
77. Derley-Usmar V, Halliwell B. Blood Radicals: Reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharm Res* 1996;**13**:649-662.
78. Francis GA. High density lipoprotein oxidation: in vitro susceptibility and potential in vivo consequences. *Biochim Biophys Acta* 2000;**1483**:217-235.
79. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;**84**:1381-1478.
80. Čepelak I. Slobodni radikali i antioksidansi. U: Čvorišćec D, Čepelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009:472-503.

81. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali c. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003;**18**:1272-1280.
82. Miyata T, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C. Relevance of oxidative and carbonyl stress to long-term uremic complications. *Kidney Int* 2000;**76**(Suppl.1):120-125.
83. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, London GM, Jungers P. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;**45**:39-47.
84. Miyata T, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K, Baynes JW. Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: origin and significance of „carbonyl stress“ in long-term uremic complications. *Kidney Int* 1999;**55**:389-99.
85. Romeu M, Nogues R, Marcas L, Sánchez-Martos V, Mulero M, Martinez-Vea A, Mallol J, Giralt M. Evaluation of oxidative stress biomarkers in patients with chronic renal failure: a case control study. *BMC Res Notes* 2010;**3**:20-26.
86. Miyata T, Ueda Y, Saito A, Kurokawa K. ‘Carbonyl stress’ and dialysis-related amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant* 2000;**15**(Suppl.1):25-28.
87. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes* 2008;**57**:1446-1454.
88. Morena M, Delbosc S, Dupuy AM, Canaud B, Cristol JP. Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: A potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodial Int* 2005;**9**:37-46.
89. Handelman GJ. Current studies on oxidant stress in dialysis. *Blood Purif* 2003;**21**:46-50.
90. Agarwal R, Vasavada N, Sachs NG, Chase S. Oxidative stress and renal injury with intravenous iron in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004;**65**:2279-2289.
91. Michelis R, Gery R, Sela S, Shurtz-Swirski R, Grinberg N, Snitkovski T, Shasha SM, Kristal B. Carbonyl stress induced by intravenous iron during haemodialysis. *Nephrol dial Transplant* 2003;**18**:924-930.
92. Salahudeen KA, Oliver B, Bower JD, Roberts II J. increase in plasma esterified F₂-isoprostanes following intravenous iron infusion in patients on hemodialysis. *Kidney Int* 2001;**60**:1525-1531.
93. Zanen AL, Adriaansen HJ, van Bommel EFH, Posthuma R, de Jong GMT. ‘Oversaturation’ of transferrin after intravenous ferric gluconate (Ferrlecit®) in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1996;**11**:820-824.
94. Cimen MY. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta.* 2008;**390**:1-11.
95. Čepelak I, Dodig S. Glutation i oksidacijski stres. *Biochem Med* 2003;**13**:93-100.
96. Institute for Biochemistry and Biotechnology (2011) The Comprehensive Enzyme Information System. Dostupno na: <http://www.brenda-enzymes.org> [1. listopada 2011].
97. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol* 2005;**69**:541-550.

98. Alcaïno H, Greig d, Chiong M, Vrdejo H, Miranda R, concepcion R, Vukasovic JL, Diaz-Araya g, mellado R, Garcia I, Salas D, Gonzalez I, Godoy I, Castro P, Lavandero S. Serum uric acid correlates with extracellular superoxide dismutase activity in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2008;**10**:646-651.
99. Hink HU, Santanam N, Dikalov S, McCann L, Nguyen AD, Parthasarathy S, Harrison DG, Fukai T. Peroxidase properties of extracellular superoxide dismutase: role of uric acid in modulating in vivo activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**:1402-1408.
100. Zachara BA, Gromadzinska J, Wasowicz W, Zbrog Z. Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: A review. *Acta Biochim Pol* 2006;**53**:663-677.
101. Mustacich D, Powis G. Thioredoxin reductase. *Biochem J* 2000;**346**:1-8.
102. Ros D, van Zwieten R, Wijnen JT, Gomez-Gallego F, de Boer M, Stevens D, Pronk-admiraal CJ, de Rijk T, van Noorden CJf, Weening RS, Vulliamy TJ, Ploem JE, Mason PJ, Bautista JM, Khan PM, Beutler E. Molecular basis and enzymatic properties of glucose-6-phosphate dehydrogenase Volendam, leading to chronic nonspherocytic anemia, granulocyte dysfunction, and increased susceptibility to infections. *Blood* 1999;**94**:2955-2962.
103. Mehta A, Mason PJ, Vulliamy TJ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000;**13**:21-38.
104. Farhud INDEKS, Yazdanpanah L. Glukose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency. *Iranian J Publ Health* 2008;**37**:1-18.
105. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. The paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002;**13**:357-362.
106. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atheroscler Suppl* 2002;**3**:49-55.
107. Mbewu AD, Bhatnagar D, Durrington PN, Hunt L, Ishola M, Arrol S, Mackness M, Lockley P, Miller JP. Serum lipoprotein(a) in patients heterozygous for familial hypercholesterolemia, their relatives, and unrelated control populations. *Arterioscler Thromb* 1991;**11**:940-946.
108. Van Himbergen TM, van Tits LJ, Roest M, Stalenhoef AF. The story of PON1: how an organophosphate-hydrolysing enzyme is becoming a player in cardiovascular medicine. *Neth J Med* 2006;**64**:34-38.
109. Getz GS, Reardon CA. Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. *Curr Opin Lipidol* 2004;**15**:261-267.
110. Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. *BMC Cancer* 2007;**7**:48-55.
111. Prakash M. Paraoxonase: Its antiatherogenic role in chronic renal failure. *Indian J Nephrol* 2010;**20**:9-14.
112. Fuhrman B, Volkova N, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is present in postprandial chylomicrons. *Atherosclerosis* 2005;**180**:55-61.

113. Li WF, Sun CW, Cheng TJ, Chang KH, Chen CJ, Wang SL. Rise of carotid atherosclerosis is associated with low serum paraoxonase (PON1) activity among arsenic exposed residents in Southwestern Taiwan. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009;**236**:246-253.
114. Aviram M, Rosenblat M. Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development. *Free Radic Biol Med* 2004;**37**:1304-1316.
115. Juretić D, Motejlkova A, Kunović B, Rekić B, Flegar-Meštrić Z, Vujić L, Mesić R, Lukać-Bajlo J, Simeon-Rudolf V. Paraoxonase/arylesterase in serum of patients with type II diabetes mellitus. *Acta Pharm* 2006;**56**:59-68.
116. Grdic Rajković M, Rumora L, Barišić K. The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochem Med* 2011;**21**:122-130.
117. Fuhrman B, Partoush A, Aviram M. Acetylcholine esterase protects LDL against oxidation. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;**322**:974-978.
118. Mitrache C, Passweg JR, Libura J, Petrikos L, Seiler WO, Gratwohl A, Stahelin HB, Tichelli A. Anemia: an indicator for malnutrition in the elderly. *Ann Hematol* 2001;**80**:295-298.
119. Corti MC, Gaziano M, Hennekens CH. Iron status and risk of cardiovascular disease. *Ann Epidemiol* 1997;**7**:62-68.
120. Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* 2000;**28**:1815-1826.
121. Isogawa A, Yamakado M, Yano M, Shiba T. Serum superoxide dismutase activity correlates with the components of metabolic syndrome or carotid artery intima-media thickness. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;**86**:213-218.
122. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology* 2006;**13**:129-142.
123. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH, McNamee PT, Young IS. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1995;**41**:1135-1138.
124. Albertini R, Moratti R, G De Luca. Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. *Curr Mol Med* 2002;**2**:579-592
125. Rahman K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging* 2007;**2**:219-236.
126. Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS, Subramanian RR, Wilcox JN, Harrison DG. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation* 1995;**92**:898-903.
127. Geisser P. Iron therapy and oxidative stress. *Met Based Drugs* 1997;**4**:137-152.
128. Borén J, Gustafsson M, Skälén K, Flood C, Innerarity TL. Role of extracellular retention of low density lipoproteins in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2000;**11**:451-456.
129. Boizel R, Benhamou PY, Lardy B, Laporte F, Foulon T, Halimi S. Ratio of triglycerides to HDL cholesterol is an indicator of LDL particle size in patients with type 2 diabetes and normal HDL cholesterol levels. *Diabetes Care* 2000;**23**:1679-1685.

130. da Luz PL, Favarato D, Faria-Neto JR Jr, Lemos P, Chagas AC. High ratio of triglycerides to HDL-cholesterol predicts extensive coronary disease. *Clinics (Sao Paulo)* 2008;**63**:427-432.
131. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torty SV, Torty FM. Ferritin for the clinician. *Blood Rev* 2009;**23**:95-104.
132. Camejo G, Halberg C, Manschik-Lundin A, Hurt-Camejo E, Rosengren B, Olsson H, Hansson GI, Forsberg GB, Ylhen B. Hemin binding and oxidation of lipoproteins in serum: mechanisms and effect on the interaction of LDL with human macrophages. *J Lipid Res* 1998;**39**:755-766.
133. Seki T, Kunichika T, Watanabe K, Orino K. Apolipoprotein B binds ferritin by hemin-mediated binding: evidence of direct binding of apolipoprotein B and ferritin to hemin. *Biometals*. 2008;**21**:61-69.
134. Lynch SM, Frei B. Mechanisms of metal ion-dependent oxidation of human low density lipoprotein. *J Nutr* 1996;**126**(4 Suppl.):1063-1066.
135. de Valk B, Leus FR, Voorbij HA, Marx JJ. Iron does not bind to the Apo-B protein of low-density lipoprotein. *Eur J Clin Invest* 2002;**32** (Suppl.1):17-20.
136. Roland A, Petterson RA, Leake DS. Measurement of copper-binding sites on low density lipoprotein. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2001;**21**:594-602.
137. Meyers DG. The iron hypothesis—does iron cause atherosclerosis? *Clin Cardiol* 1996;**19**:925-929.
138. Chau LY. Iron and atherosclerosis. *Proc Natl Sci Coun Repub China B* 2000;**24**:151-155.
139. de Valk B, Marx JJ. Iron, atherosclerosis, and ischemic heart disease. *Arch Intern Med* 1999;**159**:1542-1548.
140. Lee FY, Lee TS, Pan CC, Huang AL, Chau LY. Colocalization of iron and ceroid in human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 1998;**138**:281-288
141. Stadler N, Lindner RA, Davies MJ. Direct detection and quantification of transition metal ions in human atherosclerotic plaques: evidence for the presence of elevated levels of iron and copper. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;**24**:949-954.
142. Lamb DJ, Mitchinson MJ, Leake DS. Transition metal ions within human atherosclerotic lesions can catalyse the oxidation of low density lipoprotein by macrophages. *FEBS Lett* 1995;**374**:12-16.
143. Brewer GJ. Iron and copper toxicity in diseases of aging, particularly atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Exp Biol Med* 2007;**232**:323-335.
144. Raveh O, Pinchuk I, Schnitzer E, Fainaru M, Schaffer Z, Lichtenberg D. Kinetic analysis of copper-induced peroxidation of HDL, autoaccelerated and tocopherol-mediated peroxidation. *Free Radic Biol Med* 2000;**29**:131-146.
145. Kontush A, Meyer S, Finckh B, Kohlschütter A, Beisiegel U. Alpha-tocopherol as a reductant for Cu(II) in human lipoproteins. Triggering role in the initiation of lipoprotein oxidation. *J Biol Chem* 1996;**271**:11106-11112.
146. Fraga CG, Oteiza PI. Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2002;**180**:23-32.

147. Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003;**63**:793-808.
148. Kalantar-Zadeh K. What is so bad about reverse epidemiology anyway? *Semin Dial* 2007;**20**:593-601.
149. Nurmohamed SA, Nubé MJ. Reverse epidemiology: paradoxical observations in haemodialysis patients. *Neth J Med* 2005;**63**:376-381.
150. Kalantar-Zadeh K, Block G, Horwich T, Fonarow GC. Reverse epidemiology of conventional cardiovascular risk factors in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004;**43**:1439-1444.
151. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome - the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant* 2002;**17**(Suppl.11):28-31.
152. Nascimento MM, Pecoits-Filho R, Lindholm B, Riella MC, Stenvinkel P. Inflammation, malnutrition and atherosclerosis in end-stage renal disease: a global perspective. *Blood Purif* 2002;**20**:454-458.
153. Kalantar-Zadeh K. Recent advances in understanding the malnutrition-inflammation-cachexia syndrome in chronic kidney disease patients: What is next? *Semin Dial* 2005;**18**:365-369.
154. Kalantar-Zadeh K, Abbott KC, Salahudeen AK, Kilpatrick RD, Horwich TB. Survival advantages of obesity in dialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2005;**81**:543-554.
155. Wattanakit K, Coresh J, Muntner P, Marsh J, Folsom AR. Cardiovascular risk among adults with chronic kidney disease, with or without prior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2006;**48**:1183-1189.
156. Piasek M, Mikolić A. Minerals and physiology from essentiality to toxicity: A review of important minerals and their major impact on the human body's physiology. U: Gašperlin L, Žlender B, ur. "Role of Minerals in Food Technology and Nutrition", 26th Food Technology Days dedicated to Prof. F. Bitenc, Ljubljana; 2009, str. 9-19.
157. SZO, ur. Trace elements in human nutrition and health. Svjetska zdravstvena organizacija, Geneve, Švicarska, 1996.
158. Thomas L, ur. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and assessment of clinical laboratory results 1. Izd. Frankfurt/Main, Njemačka, TH-Books-Verlagsgesellschaft GmbH, 1998.
159. Miline DB. Trace elements. U: Burtis CA, Ashwood ER, ur. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 5. Izd. St. Louis: Elsevier Saunders, 2001:568-583.
160. Štraus B, Rumora L. Elementi u tragovima. U: Čvorišćec D, Čepelak I, ur. Štrausova medicinska biokemija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009:389-408.
161. Porter WH, Moyer TP. Clinical toxicology. U: Burtis CA, Ashwood ER, ur. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 5. Izd. St. Louis: Elsevier Saunders, 2001:636-679.
162. Mudgal V, Madaan N, Mudgal A, Singh RB, Mishra S. Effect of toxic metals on human health. *Open Nutra J* 2010;**3**:94-99.
163. Meltzer HM, Brantsæter AL, Borch-Johnsen B, Ellingsen DG, Alexander J, Thomassen Y, Stigum H, Ydersbond TA. Low iron stores are related to higher blood concentrations of

- manganese, cobalt and cadmium in non-smoking, Norwegian women in the HUNT 2 study. *Environ Res* 2010;**110**:497–504
164. Nairz M, Weiss G. Molecular and clinical aspects of iron homeostasis: from anemia to hemochromatosis. *Wein Klin Wochenschr* 2006;**118**:442-462.
 165. Schumann K, Ertle T, Szegner B, Elsenhans B, Solomons NW. On risks and benefits of iron supplementation recommendations for iron intake revised. *J Trace Elem Med Biol* 2007;**21**:147-168.
 166. Hider RC. Nature of nontransferrin-bound iron. *Eur J Clin Invest* 2002;**32**(Suppl.1):50-54.
 167. Bleackley MR, Wong AYK, Hudson DM, Wu CH-Y, MacGillivray RTA. Blood iron homeostasis: Newly discovered proteins and iron imbalance. *Transfus Med Rev* 2009;**23**:103-123.
 168. Breuer W, Hershko C, Cabantchik ZI. The importance of non-transferrin bound iron in disorders of iron metabolism. *Transfus Sci* 2000;**23**:185-192.
 169. Puntarulo S. Iron, oxidative stress and human health. *Mol Aspects Med* 2005;**26**:299-312.
 170. Van Tits LJH, Jacobs EMG, Swinkles DW, Lemmers HLM, van der Vleuten GM, de Graaf J, Stalenhoef AFH. Non-transferrin-bound iron is associated with plasma level of soluble intracellular adhesion molecule-1 but not with in vivo low-density lipoprotein oxidation. *Atherosclerosis* 2007;**194**:272-278.
 171. Lamb DJ, Leake AS. Iron released from transferrin at acidic pH can catalyse the oxidation of low density lipoprotein. *FEBS Lett* 1994;**352**:15-18.
 172. Scheiber-Mojdehkar B, Lutzky B, Schaufler R, Sturm B, Goldenberg H. Non-transferrin-bound iron in the serum of hemodialysis patients who receive ferric saccharate: No correlation to peroxide generation. *J Am Soc Nephrol* 2004;**15**:1648-1655.
 173. Theil EC. Ferritin: at the crossroads of iron and oxygen metabolism. *J Nutr* 2003;**133**(5 Suppl.1):1549-1553.
 174. Flanagan PR, Haist J, Valberg LS. Comparative effects of iron deficiency induced by bleeding and a low-iron diet on the intestinal absorptive interactions of iron, cobalt, manganese, zinc, lead and cadmium. *J Nutr* 1980;**110**:1754-1763.
 175. Liuzzi JP, Aydemir F, Nam H, Knutson MD, Cousins RJ. Zip14 (Slc39a14) mediates non-transferrin-bound iron uptake into cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;**103**:13612-13617.
 176. Andrews NC. Molecular control of iron metabolism. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;**18**:159-169.
 177. Aisen P, Enns C, Wessling-resnick M. chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;**33**:940-959.
 178. Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* 2001;**22**:1-87.
 179. Wright TL, Brissot P, Ma WL, Weisiger RA. Characterization of non-transferrin-bound iron clearance by rat liver. *J Biol Chem* 1986;**261**:10909-10914.
 180. Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*

- 2005;**202**:199-211.
181. Arredondo M, Nunez MT. Iron and copper metabolism. *Mol Aspects Med* 2005;**26**:313-327.
 182. Sammarco MC, Ditch S, Banerjee A, Grabczyk E. Ferritin L and H subunits are differentially regulated on a post-transcriptional level. *J Biol Chem* 2008;**283**:4578-4587.
 183. Weiss G. Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta* 2009;**1790**:682-693.
 184. Volz K. The functional duality of iron regulatory protein 1. *Curr Opin Struct Biol* 2008;**18**:106-111.
 185. Martin F, Linden T, Katschinski DM, Oehme F, Flamme I, Mukhopadhyay CK, Eckhardt K, Troger J, Barth S, Camenisch G, Wenger RH. Copper-dependent activation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1: implications for ceruloplasmin regulation. *Blood* 2005;**105**:4613-4619.
 186. Bárány E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Skerfving S, Oskarsson A. Iron status influences trace element levels in human blood and serum. *Environ Res* 2005;**98**:215-223.
 187. Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: Copper. *Biomed Pharmacother* 2003;**57**:386-398.
 188. Zager RA. Parenteral iron treatment induces MCP-1 accumulation in plasma normal kidneys, and in experimental nephropathy. *Kidney Int* 2005;**68**:1533-1542.
 189. Bishu K, Agrawal R. Acute injury with intravenous iron and concerns regarding long-term safety. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;**1**:19-23.
 190. Van Campenhout A, Van Campenhout C, Lagrou A, Manuel-y-Keenoy B. Iron-induced oxidative stress in haemodialysis patients: a pilot study on the impact of diabetes. *Biomaterials* 2008;**21**:159-170.
 191. Zager RA. Parenteral iron compounds: Potent oxidants but mainstays of anemia management in chronic renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;**1**:24-31.
 192. Sengelge G, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Intravenous iron therapy: well-tolerated, yet not harmless. *Eur J Clin Invest* 2005;**35**(Suppl.3):46-51.
 193. Fishbane S. Safety in iron management. *Am J Kidney Dis* 2003;**6**(suppl 5):18-26.
 194. Bayes B, Pastor MC, Bonal J, Foraster a, Romero R. oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis-role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up. *Nephrol dial transplant* 2006;**21**:984-990
 195. Leehey DJ, Palubiak DJ, Chebrolu S, Agarwal R. Sodium ferric gluconate causes oxidative stress but not acute renal injury in patients with chronic kidney disease: a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 2005;**20**:135-140.
 196. Zager RA, Johnson ACM, Hanson SY. Parenteral iron nephrotoxicity: Potential mechanisms and consequences. *Kidney Int* 2004;**66**:144-156.
 197. Kooistra MP, Kersting S, Gosriwatana I, Lu S, Nijhoff-Schutte J, Hider RC, Marx JJM. Nontransferrin-bound iron in the plasma of haemodialysis patients after intravenous iron

- saccharate infusion. *Eur J Clin Invest* 2002;**32**(Suppl.1):36-41.
198. Patruta SI, Edlinger R, Sunder-Plassmann G, Horl WH. Neutrophil impairment associated with iron therapy in hemodialysis patients with functional iron deficiency. *J Am Soc Nephrol* 1998;**9**:655-663.
 199. Parkkinen J, Von Bonsdorff L, Peltonen S, Gronhagen-Riska C, Rosenlof K. Catalytically active iron and bacterial growth in serum of hemodialysis patients after i.v. iron-saccharate administration. *Nephrol Dial Transplant* 2000;**15**:1827-1834.
 200. Prakash M, Upadhyaya S, Prabhu R. Serum non-transferrin bound iron in hemodialysis patients not received intravenous iron. *Clin Chim Acta* 2005;**360**:194-198.
 201. Legssyer R, Geisser P, McArdle H, crichton RR, Ward RJ. Comparison of injectable iron complexes in their ability to iron load tissues and to induce oxidative stress. *BioMetals* 2003;**16**:425-433.
 202. Sturm B, Laggner H, ternes N, Goldenberg H, Scheiber-Mojdehkar B. Intravenous iron preparations and ascorbic acid: Effects on chelatable and bioavailable iron. *Kidney Int* 2005;**67**:1161-1170.
 203. Braughler JM, Duncan LA, Chase RL. The involvement of iron in lipid peroxidation: Importance of ferric to ferrous ratios in initiation. *J Biol Chem* 1986;**261**:10282-10289.
 204. Silverstein SB, Rodgers GM. Parenteral iron therapy options. *Am J Hematol* 2004;**76**:74-78..
 205. Auerbach M, Ballard H. Clinical use of intravenous iron: administration, efficacy, and safety. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010;**2010**:338-347.
 206. Harvey LJ, McArdle HJ. Biomarkers of copper status: A brief update. *Br J Nutr* 2008;**99**(Suppl.3):10-13.
 207. Danzeisen R, Araya M, Harrison B, Keen C, Solioz M, Thiele D, McArdle HJ. How reliable and robust are current biomarker for copper status? *Br J Nutr* 2007;**98**:676-683.
 208. Løvstad RA. A kinetic Study on the distribution of Cu(II)-ions between albumin and transferrin. *BioMetals* 2004;**17**:111-113.
 209. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med* 2000;**28**:1735-1744.
 210. Shukla N, Maher J, Masters J, Angelini GB, Jeremy JY. Does oxidative stress change ceruloplasmin from a protective to a vasculopathic factor? *Atherosclerosis* 2006;**187**:238-250.
 211. Healy J, Tipton K. Ceruloplasmin and what it might do. *J Neural Transm* 2007;**114**:777-781.
 212. Banha J, Marques L, Oliveira R, Martins Mde F, Paixão E, Pereira D, Malhó R, Penque D, Costa L. Ceruloplasmin expression by human peripheral blood lymphocytes: a new link between immunity and iron metabolism. *Free Radic Biol Med* 2008;**44**:483-492.
 213. Altamura C, Squitti R, Pasqualetti P, Gaudino C, Palazzo P, Tibuzzi F, Lupoi D, Cortesi M, Rossini PM, Vernieri F..Ceruloplasmin/Transferrin system is related to clinical status in acute stroke. *Stroke* 2009;**40**:1282-1288.
 214. Attieh ZK, Mukhopadhyay CK, Seshadri V, Tripoulas NA, Fox PL. Ceruloplasmin

- ferroxidase activity stimulates cellular iron uptake by a trivalent cation-specific transport mechanism. *J Biol Chem* 1999;**274**:1116-1123.
215. Uriu-Adams JY, Keen CL. Copper, oxidative stress, and human health. *Mol Aspects Med* 2005;**26**:268-298.
216. Shenkin A. Basic in clinical nutrition: Physiological function and deficiency states of trace elements. *E-SPEN, Eur e-J Clin Nutr Metab* 2008;**3**:255-258.
217. Mezzetti A, Pierdomenico SD, Costantini F, Romano F, De Cesare D, Cuccurullo F, Imbastaro T, Riario-Sforza G, Di Giacomo F, Zuliani G, Fellin R. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radic Biol Med* 1998;**25**:676-681.
218. Mercer JFB. The molecular basis of copper-transport diseases. *Trends Mol Med* 2001;**7**:64-69.
219. Twomey PJ, Viljoen A, Reynolds TM, Wierzbicki AS. Non-ceruloplasmin-bound copper in routine clinical practice in different laboratories. *J Trace Elem Med Biol* 2008;**22**:50-53.
220. Olivares M, Mendez MA, Astudillo PA, Pizarro F. Present situation of biomarkers for copper status. *Am J Clin Nutr* 2008;**88**(Suppl.1):859-862.
221. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 2000;**130**(5S Suppl.):1447-1454.
222. Fell GS. Trace element metabolism in chronic renal failure: Update and perspectives. *Nefrologia* 1986;**3**:26-29.
223. Jursa T, Smith DR. Ceruloplasmin alters the tissue disposition and neurotoxicity of manganese, but not its loading onto transferrin. *Toxicol Sci* 2009;**107**:182-193.
224. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;**160**:1-40
225. Lee SW, Kim HJ, Kwon HK, Son SM, Song JH, Kim MJ. Agreements between indirect calorimetry and prediction equations of resting energy expenditure in end-stage renal disease patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Yonsei Med J* 2008;**49**:255-264.
226. Woodrow G, Oldroyd B, Wright A, Coward WA, Truscott JG, Turney JH, Brownjohn AM, Smith MA. Comparison of anthropometric equations for estimation of total body water in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;**18**:384-389.
227. Desmeules S, Lévesque R, Jaussent I, Leray-Moragues H, Chalabi L, Canaud B. Creatinine index and lean body mass are excellent predictors of long-term survival in haemodiafiltration patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;**19**:1182-1189.
228. Daugirdas JT, Levin NW, Kotanko P, Depner TA, Kuhlmann MK, Chertow GM, Rocco MV. Comparison of proposed alternative methods for rescaling dialysis dose: resting energy expenditure, high metabolic rate organ mass, liver size, and body surface area. *Semin Dial* 2008;**21**:377-384.
229. Weiss G, Gordeuk VR. Benefits and risks of iron therapy for chronic anaemias. *Eur J Clin Invest* 2005;**35**(Suppl 3):36-45.
230. HKMB (2004) Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije.

Dostupno na: <http://www.hkmb.hr/obavijesti/obavijesti-indeks.html> [1. siječnja 2011].

231. HKMB (2008) Harmonizacija specijalističkih i visokodiferentnih pretraga iz područja medicinske biokemije, laboratorijske imunologije i analitičke toksikologije. Dostupno na: <http://www.hkmb.hr/obavijesti/obavijesti-index.html> [1. siječnja 2011].
232. Sözmen EY, Sözmen B, Delen Y, Onat T. Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Arch Med Res.* 2001;**32**:283-287.
233. Granot E, Kohen R. Oxidative stress in abetalipoproteinemia patients receiving long-term vitamin E and vitamin A supplementation. *Am J Clin Nutr* 2004;**79**:226-230.
234. Erel O. Automated measurement of serum ferroxidase activity. *Clin Chem* 1998;**44**:2313-2319.
235. Painter CP, Cope JY, Smith JL. Reference information for the clinical laboratory. U: Burtis CA, Ashwood ER, ur. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 5. Izd. St. Louis: Elsevier Saunders, 2001:955-1028.
236. Alegría A, Barberá R, Clemente G, Farré R, García MJ, Lagarda MJ. Selenium and glutathione peroxidase reference values in whole blood and plasma of a reference population living in Valencia, Spain. *J Trace Elem Med Biol* 1996;**10**:223-228.
237. Domijan AM, Rudes K, Peraica M. The effect of ochratoxin A on the concentration of protein carbonyls in rats. *Arh Hig Rada Toksikol* 2005;**56**:311-315.
238. Trombetta D, Gangemi S, Saija A, Minciullo PL, Cimino F, Cristani M, Briuglia S, Piraino B, Isola S, Salpietro CD. Increased protein carbonyl groups in the serum of patients affected by thalassemia major. *Ann Hematol* 2006;**85**:520-522.
239. Seligman PA, Schleicher RB. Comparison of methods used to measure serum iron in the presence of iron gluconate or iron dextran. *Clin Chem* 1999;**45**:898-901.
240. Lindsay HA, Jorge LR, Jennifer EC, Patricia L., Elsa M, Olga PG, Homero M. Lack of hemoglobin response to iron supplementation in anemic Mexican preschoolers with multiple micronutrient deficiencies. *Am J Clin Nutr* 2000;**71**:1485-94.
241. López-Gómez JM, Portolés JM, Aljama P. Factors that condition the response to erythropoietin in patients on hemodialysis and their relation to mortality. *Kidney Int Suppl* 2008;(Suppl 111):75-81.
242. Guerrero-Riscos MA, Montes-Delgado R, Seda-Guzman M, Praena-Fernandez JM. Erythropoietin resistance and survival in non-dialysis patients with stage 4-5 chronic kidney disease and heart disease. *Nefrologia* 2012;**32**:343-352.
243. Takagi K, Kin K, Itoh Y, Enomoto H, Kawai T. Human alpha 1-microglobulin levels in various body fluids. *J Clin Pathol* 1980;**33**:786-791.
244. Clark WR, Gao D. Determinants of uraemic toxin removal. *Nephrol Dial Transplant* 2002;**17**(Suppl 3):30-34.
245. Heng AE, Cano NJM. Nutritional problems in adult patients with stage 5 chronic kidney disease on dialysis (both haemodialysis and peritoneal dialysis). *Nephrol Dial Transplant Plus* 2010;**3**:109-117.
246. Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Rosales LM, Levin NW. The acute-phase response varies

- with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000;**58**:346-352.
247. Johnson AM, Rohlfes EM, Silverman LM. Proteins. U: Burtis CA, Ashwood ER, ur. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 5. izd. St. Louis: Elsevier Sunders, 2001:325-351.
 248. Gonzalez Madrono A, Mancha A, Rodriguez FJ, de Ulibarri JI, Culebras J. The use of biochemical and immunological parameters in nutritional screening and assessment, *Nutr Hosp* 2011;**26**:594-601.
 249. Kopelman RC, Smith L, Peoples L, Biesecker R, Rizkala AR. Functional iron deficiency in hemodialysis patients with high ferritin. *Hemodial Int* 2007;**11**:238-246.
 250. Samadian F, Lessan-Pezeshki M, Mahdavi-Mazdeh M, Kadkhodaie M, Seifi S, Ahmadi F. Relation of antioxidant and acute-phase reactants in patients receiving hemodialysis. *Iran J Kidney Dis* 2007;**1**:38-42.
 251. Senol E, Ersoy A, Erdinc S, Sarandol E, Yurtkuran M. Oxidative stress and ferritin levels in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008;**23**:665-672.
 252. Pohanka M, Novotny L, Misik J, Kuca K, Zadarova-Karasova J, Hrabanova M. Evaluation of cholinesterase activities during in vivo intoxication using an electrochemical sensor strip-correlation with intoxication symptoms. *Sensors* 2009;**9**:3627-3634.
 253. Lahera V, Goicoechea M, de Vinuesa SG, Oubiña P, Cachofeiro V, Gómez-Campderá F, Amann R, Luño J. Oxidative stress in uremia: the role of anemia correction. *J Am Soc Nephrol* 2006;**17**(Suppl 3):174-177.
 254. Šefer S, Degoricija V. About drug dialyzability. *Acta Clin Croat* 2003;**42**:257-267.
 255. Van Buren P. Iron overdose: a contributor to adverse outcomes in randomized trials of anemia correction in CKD. *Int Urol Nephrol* 2012;**44**:499-507.
 256. Kukulj S, Jaganjac M, Boranic M, Krizanac S, Santic Z, Poljak-Blazi M. Altered iron metabolism, inflammation, transferrin receptors, and ferritin expression in non-small-cell lung cancer. *Med Oncol* 2010;**27**:268-277.
 257. Malešev D, Kunti V. Investigation of metal–flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal–flavonoid complexing reactions. *J Serb Chem Soc* 2007;**72**: 921–939.
 258. Buettner GR, Jurkiewicz BA. Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiat Res* 1996;**145**:532-541.
 259. Jacobs EM, Hendriks JC, van Tits BL, Evans PJ, Breuer W, Liu DY, Jansen EH, Jauhiainen K, Sturm B, Porter JB, Scheiber-Mojdehkar B, von Bonsdorff L, Cabantchik ZI, Hider RC, Swinkels DW. Results of an international round robin for the quantification of serum non-transferrin-bound iron: Need for defining standardization and a clinically relevant isoform. *Anal Biochem* 2005;**41**:241-250.
 260. Prakash M. Role of non-transferrin-bound iron in chronic renal failure and other disease conditions. *Indian J Nephrol* 2007;**17**:188-193.
 261. Pai AB, Conner T, McQuade CR, Olp J, Hicks P. Non-transferrin bound iron, cytokine activation and intracellular reactive oxygen species generation in hemodialysis patients receiving intravenous iron dextran or iron sucrose. *Biometals*. 2011;**24**:603-613.
 262. Stefansson BV, Haraldsson B, Nilsson U. Ascorbyl free radical reflects catalytically active

- iron after intravenous iron saccharate injection. *Free Radic Biol Med* 2008;**45**:1302-1307.
263. Lim PS, Wei YH, Yu YL, Kho B. Enhanced oxidative stress in haemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1999;**14**:2680-2687.
264. Mimić-Oka J, Savić-Radojević A, Pljesa-Ercegovac M, Opacić M, Simić T, Dimković N, Simić DV. Evaluation of oxidative stress after repeated intravenous iron supplementation. *Ren Fail* 2005;**27**:345-351.
265. Landmesser U, Merten R, Spiekermann S, Buttner K, Drexler H, Horning B. Vascular extracellular superoxide dismutase activity in patients with coronary artery disease: Relation to endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 2000;**101**:2264-2270.
266. Fukai T, Siegfried MR, Ushio-Fukai M, Griendling KK, Harrison DG. Modulation of extracellular superoxide dismutase expression by angiotensin II and hypertension. *Circ Res* 1999;**85**:23-8.
267. Uauy R, Castillo-Duran C, Fisberg M, Fernandez N, Valenzuela A. Red cell superoxide dismutase activity as an index of human copper nutrition. *J Nutr* 1985;**115**:1650-1655.
268. Coudray C, Richard MJ, Laporte F, Faure P, Roussel AM, Favier A. Superoxide Dismutase Activity and Zinc Status: a Study in Animals and Man. *J Nutr Environ Med* 1992;**3**:13-26.
269. Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur J Clin Nutr* 2004;**58**:391-402.
270. Shainkin-Kestenbaum R, Adler AJ, Berlyne GM, Caruso C. Effect of aluminium on superoxide dismutase. *Clin Sci* 1989;**77**:463-466.
271. Zaman K, Zaman W, Siddique H. Hematological and enzymatic results of aluminum intoxication in rats. *Comp Biochem Physiol* 1993;**105**:73-76.
272. Horiguchi H, Oguma E, Kayama F. Cadmium induces anemia through interdependent progress of hemolysis, body iron accumulation, and insufficient erythropoietin production in rats. *Toxicol Sci* 2011;**122**:198-210.
273. Emenaker NJ, DiSilvestro RA, Nahman NS, Percival S. Copper-related blood indexes in kidney dialysis patients. *Am J Clin Nutr* 1996;**64**:757-760.
274. Isogawa A, Yamakado M, Yano M, Shiba T. Serum superoxide dismutase activity correlates with the components of metabolic syndrome or carotid artery intima-media thickness. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;**86**:213-218.
275. Hambali Z, Ahmad Z, Arab S, Khazaai H. Oxidative stress and its association with cardiovascular disease in chronic renal failure patients. *Indian J Nephrol* 2011;**21**:21-25.
276. Dursun B, Dursun E, Suleymanlar G, Ozben B, Capraz I, Apaydin A, Ozben T. Carotid artery intima-media thickness correlates with oxidative stress in chronic haemodialysis patients with accelerated atherosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2008;**23**:1697-1703.

8. PRILOG

Popis kratica parametara

* oznaka za pretrage koje su učinjene i nakon infuzije Ferrlecita

kratica (jedinica)	značenje kratice parametra
A (%)	udio albumina u ukupnim serumskim proteinima
AkP (DA/NE)	navika aktivnog pušenja
ALB (g/L)*	albumin
ALP (U/L)	alkalna fosfataza
ALT (U/L)	alanin-aminotransferaza
AST (U/L)	aspartat-aminotransferaza
Bazo (%)	udio bazofila
BMI (kg/m²)	indeks tjelesne mase
Ca×PO₄ (mmol²/L²)	umnožak koncentracija kalcija i anorganskih fosfata
CPa (U/L)*	feroksidazna aktivnost ceruloplazmina
CPm (g/L)*	ceruloplazmin
CRP (mg/L)*	C-reaktivni protein
Dob (g)	dob
DzEpr IU(Epr)/kg	tjedna doza Eprexa po kg TM
DzFer mg(Fer)/kg	tjedna doza Ferrlecita po kg TM
DzRec IU(Rec)/kg	tjedana doza Recormona po kg TM
EG6PD (U/g Hb)*	glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza u eritrocitima
EGPx (U/g Hb)*	glutation-peroksidaza u eritrocitima
EGRd (U/g Hb)*	glutation-reduktaza u eritrocitima
Eoz (%)	udio eozinofila
EPO (DA/NE)	primjena eritropoetina u liječenju anemije
ErAl (μmol/L)	koncentracija aluminija u eritrocitima
Erc (x10¹²/L)	eritrociti
ErCd (μmol/L)	koncentracija kadmija u eritrocitima
ErCo (μmol/L)	koncentracija kobalta u eritrocitima
ErCr (μmol/L)	koncentracija kroma u eritrocitima
ErCu (μmol/L)	koncentracija bakra u eritrocitima
ErCu/PCu	količinski omjer bakra između eritrocita i plazme
ErCu/ErZn	količinski omjer bakra i cinka u eritrocitima

ErFe (mmol/L)	koncentracija željeza u eritrocitima
ErMn (μmol/L)	koncentracija mangana u eritrocitima
ErMn/PMn	količinski omjer mangana između eritrocita i plazme
ErMo (μmol/L)	koncentracija molibdena u eritrocitima
ErNi (μmol/L)	koncentracija nikla u eritrocitima
ErPb (μmol/L)	koncentracija olova u eritrocitima
ErSe (μmol/L)	koncentracija selena u eritrocitima
ErZn (μmol/L)	koncentracija cinka u eritrocitima
ESOD (U/g Hb)*	bakar, cink-superoksid-dismutaza u eritrocitima
ESOD/EGPx*	omjer između ESOD i EGPx
FER (DA/NE)	primjena Ferrlecita
FT (μg/L)*	ferritin
FT/PRO (μg/g PRO)*	omjer između ferritina i ukupnih proteina
GGT (U/L)	γ-glutamilttransferaza
Glu (mmol/L)	glukoza
HbA_{1c} (%)	hemoglobin A _{1c}
Hct	hematokrit
HDL (mmol/L)	HDL-kolesterol
Hgb (g/L)	hemoglobin
HLR (%)	udio retikulocita s visokim rasapom laserske svjetlosti
IgG (g/L)*	imunoglobulin G
IgG+IgM ALB	omjer između zboja koncentracija imunoglobulina (IgG i IgM) i albumina
IgM (g/L)*	imunoglobulin M
IRF	indeks nezrelosti retikulocita
KAl (μmol/L)	koncentracija aluminija u krvi
KAP (piće)	konzumacija alkoholnih pića
Kbil (μmol/L)	konjugirani bilirubin
KCd (μmol/L)	koncentracija kadmija u krvi
KCo (μmol/L)	koncentracija kobalta u krvi
KCr (μmol/L)	koncentracija kroma u krvi
KCu (μmol/L)	koncentracija bakra u krvi
KEs (U/L)	pseudokolinesteraza
KFe (mmol/L)	koncentracija željeza u krvi
KMn (μmol/L)	koncentracija mangana u krvi

KMo ($\mu\text{mol/L}$)	koncentracija molibdena u krvi
KNi ($\mu\text{mol/L}$)	koncentracija nikla u krvi
KOL (mmol/L)	ukupni kolesterol
KOL/HDL	omjer između ukupnog kolesterola i HDL-kolesterola
KPb ($\mu\text{mol/L}$)	koncentracija olova u krvi
Krea ($\mu\text{mol/L}$)	kreatinin
KSe ($\mu\text{mol/L}$)	koncentracija selena u krvi
Kt/V	isporučena doza HD (kinetika ureje)
KZn ($\mu\text{mol/L}$)	koncentracija cinka u krvi
LBM (kg)	procijenjena nemasna tjelesna masa
LD (U/L)	laktat-dehidrogenaza
LDL (mmol/L)	LDL-kolesterol
LDL/HDL	omjer između LDL-kolesterola i HDL-kolesterola
LHCC (%)	udio hipokromnih eritrocita
Limfo (%)	udio limfocita
Lkc ($\times 10^9/\text{L}$)	leukociti
MCH (pg)	prosječna količina hemoglobina u eritrocitu
MCHC (g/L)	prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima
MCV (fL)	prosječni volumen eritrocita
MHD (CTM/PSM)	vrsta hemodijalizne membrane
Mono (%)	udio monocita
MPV (fL)	prosječni volumen trombocita
MRV (fL)	prosječni volumen retikulocita
MSCV (fL)	prosječni sferoidni volumen eritrocita
MSCV/MCV	omjer između sferoidnog i nativnog volumena eritrocita
Neut (%)	udio neutrofila
ne-HDL (mmol/L)	ne-HDL-kolesterol
NTFe ($\mu\text{mol/L}$)*	ukupno ne-transferinsko željezo
NTFe(II)* NTFe(III)	omjer između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza
NTFe(II) ($\mu\text{mol/L}$)*	dvovalentno ne-transferinsko željezo
NTFe(III) ($\mu\text{mol/L}$)*	trovalentno ne-transferinsko željezo
NTFe/TF ($\mu\text{mol/g TF}$)*	omjer između ukupnog ne-transferinskog željeza i transferina
PAI ($\mu\text{mol/L}$)	koncentracija aluminija u plazmi

PaP (DA/NE)	navika pasivnog pušenja
PCd (μmol/L)	koncentracija kadmija u plazmi
PCo (μmol/L)	koncentracija kobalta u plazmi
PCr (μmol/L)	koncentracija kroma u plazmi
PCu (μmol/L)	koncentracija bakra u plazmi
PCu/PZn	količinski omjer bakra i cinka u plazmi
PDW (%)	raspodjela trombocita po volumenu
PFe (μmol/L)	koncentracija željeza u plazmi
PK (nmol/mg)*	proteinski karbonili na miligram proteina
PMn (μmol/L)	koncentracija mangana u plazmi
PMo (μmol/L)	koncentracija molibdena u plazmi
PNi (μmol/L)	koncentracija nikla u plazmi
PoFe (mg)	potrebe za nadomjeskom željeza
PONa (U/L)*	natrijem stimulirana aktivnost paraoksonaze
PONb (U/L)*	bazalna aktivnost paraoksonaze
PPb (μmol/L)	koncentracija olova u plazmi
PRO (g/L)*	ukupni proteini
PSe (μmol/L)	koncentracija selena u plazmi
PT (m ²)	površina tijela
PZn (μmol/L)	koncentracija cinka u plazmi
RDBZ (g)	razdoblje od dijagnoze bubrežnog zatajenja
RDW (%)	raspodjela eritrocita po volumenu
REE (kJ)	bazalne metaboličke energijske potrebe
REE/kg (kJ)	bazalne metaboličke energijske potrebe po kilogramu nemasne tjelesne mase
Ret (%)	udio retikulocita
RHD (g)	razdoblje od početka hemodijalize
RzEpr	pokazatelj rezistencije na Eprex
RzFer	pokazatelj rezistencije na Ferrlecit
RzRec	pokazatelj rezistencije na Recormon
SCa (mmol/L)*	ukupni kalcij u serumu
SCI (mmol/L)*	kloridi u serumu
SCP (U/g)*	specifična feroksidazna aktivnost ceruloplazmina
SCu (μmol/L)*	bakar u serumu
SCu/CPm (μmol/g)*	omjer između bakra i ceruloplazmina

SCus ($\mu\text{mol/L}$)*	ne-ceruloplazminski bakar u serumu
SFe ($\mu\text{mol/L}$)*	željezo u serumu
SGRd (U/L)*	glutation-reduktaza u serumu
SK (mmol/L)*	kalij u serumu
SMg (mmol/L)*	ukupni magnezij u serumu
SNa (mmol/L)*	natrij u serumu
SP (mmol/L)	anorganski fosfati u serumu
Spol (m/ž)	spol
SSOD (U/L)*	bakar, cink-superoksid-dismutaza u serumu
SSOD/SGRd *	omjer između SSOD i GRd
SSOD_{CN} (U/L)*	superoksid-dismutaza rezistentna na inhibiciju cijanidom
TBW (kg)	procijenjena masa ukupne vode u tijelu
TF (g/L)*	transferin
TG (mmol/L)	trigliceridi
TG/HDL	omjer između triglicerida i HDL-kolesterola
THD (h)	tjedno vrijeme podvrgavanja hemodijalizi
TIBC ($\mu\text{mol/L}$)*	ukupni kapacitet vezanja željeza
TM (kg)	tjelesna masa
Trc ($\times 10^9/\text{L}$)	trombociti
TSAT (%)*	zasićenje transferina željezom
Ubil ($\mu\text{mol/L}$)	ukupni bilirubin
UIBC ($\mu\text{mol/L}$)*	nezasićeni kapacitet vezanja željeza
Ur (mmol/L)	ureja
Urat ($\mu\text{mol/L}$)	urati (mokraćna kiselina)
URR (%)	isporučena doza HD (postotak sniženja ureje)
VOM (kg)	procijenjena masa visceralnih organa
VOM/kg	masa visceralnih organa po kg TM
$\alpha 1$ (%)	udio α_1 -globulina u ukupnim serumskim proteinima
$\alpha 2$ (%)	udio α_2 -globulina u ukupnim serumskim proteinima
β (%)	udio β -globulina u ukupnim serumskim proteinima
γ (%)	udio γ -globulina u ukupnim serumskim proteinima
$\alpha_1\text{mG}$ (mg/L)*	α_1 -mikroglobulin
$\beta_2\text{mG}$ (mg/L)*	β_2 -mikroglobulin

9. ŽIVOTOPIS

Renat Mujagić rođen je 27. svibnja 1972. godine u Bihaću. Osnovnu školu i Matematičku gimnaziju završio je u Puli. Diplomirao je 13. rujna 1996. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Medicinska biokemija.

U akademskoj godini 1999/2000. upisao je poslijediplomski studij prirodnih znanosti, smjer Toksikologija, pri Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te je magistrirao 8. travnja 2003. godine pod voditeljstvom dr. sc. Spomenke Telišman.

Od 1. listopada 2001. godine bio je znanstveni novak u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada, u Jedinici za kliničko-toksikološku kemiju, gdje je aktivno sudjelovao u okviru programa trajne istraživačke djelatnosti Instituta pod nazivom "Utjecaj okoliša na zdravlje", na projektu "Učinci metala na reprodukciju zdravlje u muškaraca". Odlukom Znanstvenog vijeća Instituta 2003. godine izabran je u suradničko zvanje asistenta.

Od 19. travnja 2005. godine zaposlen je u Djelatnosti za laboratorijsku dijagnostiku u Općoj bolnici Pula. U razdoblju od 28. kolovoza 2006. godine do 27. kolovoza 2009. boravio je u Kliničkom zavodu za kemiju u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“ u Zagrebu radi stručnog usavršavanja prema programu za specijalizaciju iz Medicinske biokemije.

Znanstveno istraživački rad u Zavodu započeo je s 1. lipnjem 2008. godine u okviru projekta pod nazivom „Hemoreološki poremećaji u kroničnim bolestima“, na znanstvenom području Biomedicina i zdravstvo, uz voditeljstvo doc. dr. sc. Nade Vrkić.

U svrhu izrade doktorskog rada, a u okviru matičnog projekta, 2008. godine dogovorio je daljnju suradnju s voditeljicom Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada dr. sc. Jasnom Jurasović te prijavljuje temu doktorskog rada pod naslovom „Učinci nadomjesnog liječenja intravenskim pripravcima željeza na mineralni i antioksidacijski status u bolesnika liječenih hemodijalizom“ uz voditeljstvo doc. dr. sc. Nade Vrkić i dr. sc. Jasne Jurasović.

Po uspješno obavljenim obvezama iz programa za specijalizaciju, 27. listopada 2009. godine stekao je zvanje specijalista medicinske biokemije. Po povratku sa stručnog usavršavanja, u Djelatnosti za laboratorijsku dijagnostiku obnaša poslove Voditelja kvalitete.

Sudjelovao je na brojnim znanstvenim i stručnim skupovima, primjerice, 3. i 5. hrvatski kongres medicinskih biokemičara (rujan 1999. g. u Vukovaru, listopad 2006. g. u Poreču) te 3rd Central European Conference on Reference Materials and Measurements (svibanj 2002. g. u Rogaškoj Slatini).

Član je Hrvatske komore medicinskih biokemičara, Hrvatskog društva medicinskih biokemičara i Hrvatskog mjeriteljskog društva.

POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

Mujagić R, Pizent A, Jurasović J, Telišman S (2002) Temporal stability of a reference material for erythrocyte superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) determination. U: CERMM-3 Transactions. 3rd Central European Conference on Reference Materials and Measurements, Rogaška Slatina, Slovenija, 20.

Mujagić R. Odnos između superoksid-dismutaze, glutation-peroksidaze i bioloških pokazatelja olova, kadmija, bakra, cinka i selenija u muškaraca (Master thesis). Zagreb: Prirodoslovno-matematički fakultet;2003, p.78.

Crnokrak S, Pauro M, **Mujagić R**, Honović L. Neusklađeni rezultati pretraga štitnjače: prikaz slučaja. *Biochem Med* 2006;**16**(suppl.1):96.

Pirija M, Šimek S, **Mujagić R**, Honović L. Vrijednosti hematoloških parametara u djece predškolske dobi. *Biochem Med* 2006;**16**(suppl.1):103.

Crnokrak S, **Mujagić R**, Honović L. Laboratorijska potpora dijagnostici i praćenju bolesti štitnjače. *Biochem Med* 2006;**16**(suppl.1):153.

Trogrlić M, Bangov J, Ravnić R, **Mujagić R**, Honović L. Epruvete različitih proizvođača i vrijednosti biokemijskih parametara. *Bichem Med* 2006;**16**(suppl.1):217.

Getaldić B, **Mujagić R**, Lovrić M, Čelap I, Margetić S. Assuring internal analytical quality of blood cell examination with the different automated hematology analysers according to the EN ISO 15189:2003. *Clin Chem Lab Med* 2009;**47**(suppl):336.

Šimek S, Županić D, **Mujagić R**, Honović L. Postotak hipokromnih eritrocita kao pokazatelj funkcionalnog manjka željeza kod bolesnika na hemodijalizi. *Bichem Med* 2009;**19**(suppl.1):115.

Šimek S, Županić D, Pirija M, Percan M, **Mujagić R**, Honović L. Procjena dijagnostičkog značaja hematoloških parametara u otkrivanju nedostataka vitamina B12 ili folata. *Bichem Med* 2009;**19**(suppl.1):120.

Vrkić N, **Mujagić R**, Laškaj R, Topić E, Honović L, Jurasović J. Povezanost između aktivnosti serumske Cu/Zn-superoksid-dismutaze te pokazatelja statusa željeza i bakra u bolestima jetre. *Bichem Med* 2009;**19**(suppl.1):124.

Mujagić R, Vrkić N, Obuljen J, Užović-Frakin I, Ferenc-Ružić D, Pizent A. Biokemijski pokazatelji statusa bakra te izračun koncentracije slobodnog bakra. *Bichem Med* 2009;**19**(suppl.1):126.

Obuljen J, **Mujagić R**, Tešija Kuna A, Frakin-Užović I, Svržan J, Vrkić N. Usporedba kolorimetrijske metode za određivanje koncentracije ukupnih proteina u mokraći. *Bichem Med* 2009;**19**(suppl.1):155.

Mujagić R, Vrkić N, Getaldić B, Vukelić N, Futač D, Kvaternik M. Biokemijski pokazatelji statusa željeza i načini izračuna zasićenja transferina. *Bichem Med* 2009;**19**(suppl.1):161.

Pizent A, Pavlovi M, Jurasović J, Dodig S, Pašalić D, **Mujagić R**. Antioxidants, trace elements and metabolic syndrome in elderly subjects. *J Nutr Health Ageing* 2010;**14**:866-871.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Doktorski rad

Učinci nadomjesnog liječenja intravenskim pripravcima željeza na mineralni i antioksidacijski status u bolesnika liječenih hemodijalizom

Renat Mujagić
Opća bolnica Pula
S a ž e t a k

Cilj ovog istraživanja je bio ispitivati povezanost između upale, oksidacijskog stresa, antioksidacijskog i mineralnog statusa u bolesnika liječenih hemodijalizom s obzirom na primijenjene načine liječenja. Kliničko značenje sveukupnih međuodnosa između antioksidacijskog sustava obrane, statusa elemenata u tragovima, upale, oksidacijskog stresa su razmotreni u svrhu odabira primjerenih postupaka liječenja i hemodijalize.

Stotinu i tri bolesnika liječenih hemodijalizom s potpisanom pisanom privolom (68 muškaraca i 23 žene) su uključeni u kliničko istraživanje. Pedeset i tri bolesnika su intravenski liječeni Ferrlecitom i eritropoetinom, dok pedeset bolesnika nije primalo Ferrlecit. Trinaest bolesnika nije primalo antianemike unatrag tri mjeseca. Biokemijski i hematološki pokazatelji su određivani standardnim harmoniziranim metodama prema smjernicama Hrvatske komore medicinskih biokemičara ili drugim primjerenim metodama.

Srednjaci koncentracije selena i cinka te aktivnosti pseudokolinesteraze i paraoksonaze su niži od donje granice referentnog intervala u 103 bolesnika liječenih hemodijalizom. U bolesnika liječenih Ferrlecitom i eritropoetinom je smanjena aktivnost bakar,cink-superoksid-dismutaze u eritrocitima i povećana koncentracija feritina u serumu u usporedbi s bolesnicima koji nisu liječeni antianemicima. Aktivnost serumske superoksid-dismutaze je pozitivno povezana s koncentracijom trovalentnog-ne-transferinskog željeza i koncentracijom proteinskih karbonila. Neposredno nakon primjene infuzije Ferrlecita opažen je porast koncentracije ne-transferinskog željeza i ne-ceruloplazminskog bakra u serumu s popratnim porastom omjera između dvovalentnog i trovalentnog ne-transferinskog željeza.

Poremećaj metabolizma esencijalnih elemenata u tragovima (nedostatak selena i cinka) s pridruženim poremećajem antioksidacijskog sustava u eritrocitima (bakar, cink-superoksid-dismutaza) i/ili antioksidacijskih enzima u plazmi (paraoksonaza) uz pridruženi porast oksidacijskog stresa može pridonijeti razvoju anemije, upale i pothranjenosti što rezultira aterosklerozom i drugim krvožilnim komplikacijama u bolesnika liječenih hemodijalizom. Porast aktivnosti serumske superoksid-dismutaze u oksidacijskom stresu predstavlja prilagodbeni odgovor na povećani oksidacijski stres.

Rad je pohranjen u knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, te Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici.

(120 stranica, 30 slika, 24 tablice, 276 literaturna navoda, izvornik je na hrvatskom jeziku)

Ključne riječi: hemodijaliza, antioksidacijski enzimi, elementi u tragovima, upala, oksidacijski stres, željezo, bakar, anemija, eritropoetin, ateroskleroza

1. voditeljica: dr. sc. Nada Vrkić, docentica

2. voditeljica: dr. sc. Jasna Jurasović, znanstvena savjetnica

Ocjenjivači: 1. dr. sc. Lada Rumora, izvanredna profesorica

2. dr. sc. Nada Vrkić, docentica

3. dr. sc. Jasna Jurasović, znanstvena savjetnica

4. dr. sc. Franjo Plavšić, znanstveni savjetnik

5. dr. sc. Marija Poljak-Blaži, znanstvena savjetnica

Datum prihvatanja rada: 20. lipnja 2012. godine

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral Thesis

Effects of intravenous iron supplementation treatment on mineral and antioxidative status in hemodialysed patients

Renat Mujagić

General Hospital Pula

S u m m a r y

The aim of this study was to investigate the relationship between inflammation, oxidative stress, antioxidative and trace elements status in regard to treatment modalities in hemodialysed patients. The clinical relevance of overall interrelationships between the antioxidative defense system, trace elements status, inflammation and oxidative stress is considered for optimizing various therapies and hemodialysis modalities.

A hundred and three hemodialysed patients with signed informed consent (sixty-eight males and thirty-five females) were included in this clinical trial. Fifty-three patients underwent intravenous therapy with Ferrlecit and erythropoietin, whereas fifty patients had no Ferrlecit treatment. Biochemical and hematological parameters were determined by standard harmonized methods according to the guidelines of the Croatian Chamber of Medical Biochemists or other appropriate analytical methods.

Mean selenium and zinc plasma concentration and serum pseudocholinesterase and paraoxonase activity were below the reference range in 103 hemodialysed patients. Patients treated with Ferrlecit and erythropoietin had a lower copper, zinc-superoxide dismutase activity in erythrocytes and higher ferritin serum concentration. Thereafter, serum superoxide dismutase activity was positively associated with ferric non-transferrin iron and protein carbonyls level. An increase of non-transferrin iron and non-ceruloplasmin copper serum concentration accompanied with a concomitant rise of ratio between ferrous and ferric non-transferrin iron were observed immediately after Ferrlecit infusion.

Essential trace elements metabolism disbalance (selenium and zinc deficiency), with a concomitant disbalances of the antioxidant system in erythrocytes (copper, zinc-superoxide dismutase) and/or antioxidant enzymes in plasma (paraoxonase) in addition to occurrence of oxidative stress may contribute to anemia, inflammation and undernutrition that result with atherosclerosis and other vascular complication in hemodialysed patients. An increase of serum superoxide dismutase activity in oxidative stress represents adaptive response to enhanced oxidative stress.

Thesis is deposited in the library of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry and University Library (120 pages, 30 figures, 24 tables, 276 references, original in Croatian language)

Key words: hemodialyse, antioxidative enzyme, trace elements, inflammation, oxidative stress, iron, copper, anemia, erythropoietin, atherosclerosis

1st supervisor: Nada Vrkić, PhD, assistant professor
2nd supervisor: Jasna Jurasović, PhD, scientific adviser
Reviewers: 1. Lada Rumora, PhD, associate professor
2. Nada Vrkić, PhD, assistant professor
3. Jasna Jurasović, PhD, scientific adviser
4. Franjo Plavšić, PhD, scientific adviser
5. Marija Poljak-Blaži, PhD, scientific adviser

Thesis accepted: 20th June 2012