

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Nataša Ž. Jovanović

UTICAJ RAZLIČITIH RASTVORA
ZA PERITONEUMSKU DIJALIZU
NA KARAKTERISTIKE MEMBRANE
PERITONEUMA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2012.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Nataša Ž. Jovanović

**EFFECTS OF DIFFERENT FLUIDS
FOR PERITONEAL DIALYSIS
ON PERITONEAL MEMBRANE
CHARACTERISTICS**

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2012

Mentor:

Prof. dr Biljana Stojimirović

Komentor:

Prof. dr Snežana Žunić-Božinovski

Članovi komisije:

Prof. dr Radovan Bogdanović, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Željko Laušević, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Mileta Poskurica, Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu

SAŽETAK

Peritoneumska dijaliza (PD) je metoda zamene funkcije bubrega koju koristi više od sto hiljada bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću širom sveta, tj. oko 10 do 15% ukupne dijalizne populacije. Najvažniji problemi na dugotrajnom lečenju peritoneumskim dijalizama su infekcije i promene trbušne maramice usled delovanja dijaliznih rastvora, a gubitak kvaliteta dijalize je uzrok povećanog morbiditeta i mortaliteta. Promene, koje se zapažaju u oko 50% bolesnika koji su na dugotrajnom lečenju peritoneumskim dijalizama, su progresivna fibroza, angiogeneza i vaskularna degeneracija udružene sa ubrzanjem transportnog statusa i smanjenjem ultrafiltracije. Tokom protekle dve decenije, kvalitet dijalize je poboljšán, zahvaljujući primeni novih dijaliznih rastvora, savremenijih konekcija, automatske peritoneumske dijalize, racionalnih antibiotskih protokola ali nije rešen problem oštećenja trbušne maramice. Zbog toga neophodno je ispitivanje uzroka degenerativnih promena trbušne maramice, reakcije trbušne maramice na inflamaciju i infekciju, mehanizama peritoneumske fibroze i vaskularnog oštećenja koji uzrokuju poremećaj membrane.

Ispitivanje morfoloških promena trbušne maramice u humanoj populaciji praćeno je mnogobrojnim etičkim i tehničkim problemima i to opravdava kreiranje mnogobrojnih animalnih modela peritoneumske dijalize tokom poslednjih decenija. Struktura trbušne maramice je slična u različitim vrstama životinja, što opravdava upoređivanja između vrsta.

Ciljevi našeg istraživanja su: ispitivanje mogućnosti uvođenja novog, modifikovanog eksperimentalnog hroničnog infuzionog ne-uremijskog modela PD, koji bi bio praktičan, jednostavan, jeftin; istraživanje dugotrajnih efekata dijalizata na morfološke karakteristike tkiva peritoneuma eksperimentalnih životinja; morfometrijska analiza krvnih sudova peritoneuma eksperimentalnih životinja pre i posle izlaganja dijaliznim rastvorima. Ciljevi rada su i ispitivanje uticaja rastvora za peritoneumsku dijalizu na transportni status i na kvalitet dijalize tokom hroničnog lećenja peritoneumskim dijalizama; ispitivanje koncentracije faktora rasta vaskularnog endotela, kao angiogenetskog faktora, i transformišućeg faktora rasta beta 1, kao fibrogenetskog faktora, u izlivenom dijalizatu i u serumu tokom hroničnog dijaliznog programa; ispitivanje koncentracije kancer antigena 125 kao markera očuvanja trbušne maramice u izlivenom dijalizatu tokom prvih 6 meseci lećenja hroničnim programom peritoneumske dijalize.

Ključne reči: peritoneumska dijaliza, VEGF, TGF- β 1, Ca125, kvalitet dijalize, eksperimentalni model

Naučna oblast: medicina; Uža oblast: nefrologija

ABSTRACT

Peritoneal dialysis as renal replacement modality is performed by more than one hundred thousands patients affected by end-stage renal disease worldwide, which represents about 15% of the total dialysed population. The most important problems on long term peritoneal dialysis are infections and changes of peritoneal membrane due to effects of bioincompatible dialysis fluids, while inadequate dialysis cause increased rates of morbidity and mortality. Morphological changes found in about 50% of patients on long-term dialysis treatment are progressive fibrosis, neoangiogenesis and vascular degeneration leading to increased small solutes transport rates and ultrafiltration failure. During the last decades, quality of peritoneal dialysis has been improved, thanking to introduction of new more biocompatible dialysis solutions, safe connections, introduction of automated peritoneal dialysis, application of rational antibiotic protocols in treatment of infectious complications, but the problem of peritoneal membrane damage has not been solved so far. Etiology and pathogenesis of peritoneal membrane degenerative process, reaction of peritoneal membrane to inflammation and infection, neoangiogenic and fibrogenic pathways causing ultrafiltration failure are still studied.

Morphological examination of peritoneal membrane in human population is followed by a lot of ethical and technical problems, which brought to creation of several experimental animal models of peritoneal dialysis during the last years. Peritoneal membrane structure is similar in different animal species, and that allows confrontation among different sorts.

The aim of the study was the creation of a newly chronic non-uremic instillation experimental model of peritoneal dialysis, to be easy to perform, reproducible, cheap; examination of long-term effects of dialysis fluid on morphology of peritoneal membrane in experimental animal; morphometric analysis of peritoneal blood vessels in the experimental model before and after dialysis treatment. Further aims of the study were: analysis of dialysis fluids on peritoneal dialysis quality and transport characteristics in patients on chronic peritoneal dialysis treatment; examination of serum and effluent dialysate concentrations of angiogenic vascular endothelial growth factor and fibrogenic transforming growth factor beta 1; analysis of effluent concentrations of cancer antigen 125 in effluent dialysate during the first 6 months of chronic peritoneal dialysis treatment.

Key words: peritoneal dialysis, VEGF, TGF- β 1, Ca125, quality of dialysis, experimental models

SADRŽAJ

1 U V O D	1
1.1 HISTOLOGIJA PERITONEUMA	1
1.1.1 Mezotelne ćelije	2
1.1.1.1 Struktura humanih mezotelnih peritoneumskih ćelija	2
1.1.1.2 Veze između mezotelnih ćelija	4
1.1.1.3 Funkcije mezotelnih ćelija	5
1.1.2 Bazalna membrana	5
1.1.3 Submezotelno vezivno tkivo	6
1.1.4 Vaskularizacija peritoneuma	6
1.1.4.1 Mikrovaskularna mreža	7
1.1.4.2 Limfotok peritoneuma	7
1.1.4.3 Bele mrlje	8
1.2 TRANSPORT VODE I RASTVORENIH MATERIJA KROZ PERITONEUMSKU MEMBRANU U TOKU PERITONEUMSKE DIJALIZE	9
1.3 RASTVORI ZA PERITONEUMSKU DIJALIZU	9
1.4 POREMEĆAJ ULTRAFILTRACIJE	11
1.4.1 Uzroci poremećaja ultrafiltracije	11
1.4.2 Klinički značaj poremećaja ultrafiltracije	13
1.5 MORFOLOŠKE PROMENE PERITONEUMSKE MEMBRANE U TOKU DUGOTRAJNOG LEČENJA PERITONEUMSKIM DIJALIZAMA	13
1.5.1 Morfološke promene humanih peritoneumskih mezotelnih ćelija	14
1.5.1.1 Kultura humanih mezotelnih peritoneumskih ćelija	14
1.5.1.2 Epitelno-mezenhimalna tranzicija	15
1.5.2 Vaskulopatija	17
1.5.3 Fibroza	19
1.5.4 Uticaj dijalizne tečnosti na angiogenezu u trbušnoj maramici	19
1.5.5 Uloga glukoze i raspadnih proizvoda glukoze u oštećenju trbušne maramice	21
1.5.6 Uloga krajnjih proizvoda glikolizacije belančevina u oštećenju trbušne maramice	22
1.5.7 Uloga laktata i kiselosti u oštećenju trbušne maramice	23

1.6 ULOGA BIOMARKERA TGF-B1, VEGF-a I Ca125 U PROMENAMA TRBUŠNE MARAMICE NA PERITONEUMSKOJ DIJALIZI	24
1.6.1 Transformišući faktor rasta- β 1	24
1.6.2 Faktor rasta vaskularnog endotela	25
1.6.3 Karcinomski antigen 125	26
1.7 EKSPERIMENTALNI MODELI PERITONEUMSKE DIJALIZE	28
1.7.1 Eksperimentalne životinje	30
1.7.2 Volumen i učestalost instilacija	30
1.7.3 Dužina trajanja peritoneumske dijalize	31
1.7.4 Komplikacije peritoneumske dijalize	31
1.7.5 Biopsije trbušne maramice i analiza tkiva	31
1.7.5.1 Intravitalna mikroskopija	32
1.7.6 Ispitivanje transportnih karakteristika peritoneuma	32
1.7.7 Anatomska/patofiziološka ispitivanja peritoneumske membrane korišćenjem akutnih modela peritoneumske dijalize	33
1.7.8 Uremični model peritoneumske dijalize	34
1.7.9 Eksperimentalni model dijabetes melitusa	34
1.7.10 Angiogeneza u eksperimentalnim modelima	35
1.7.11 Fibroza u eksperimentalnim modelima	35
2 CILJEVI RADA	36
3 MATERIJAL I METODE	37
3.1 EKSPERIMENTALNA STUDIJA	37
3.1.1 Eksperimentalne životinje	37
3.1.1.1 Anestezija	38
3.1.1.2 Hirurške procedure	38
3.1.1.3 Prevencija infekcije	41
3.1.1.4 Instilacija dijalizata	41
3.1.1.5 Heparinizacija katetera	41
3.1.1.6 Uzimanje uzorka trbušne maramice za histološku analizu	42
3.1.1.7 Priprema tkiva za elektronsku mikroskopiju	42
3.2 KLINIČKA STUDIJA	43
3.2.1 Bolesnici	43

3.2.2 Biohemijske analize	44
3.2.3 Testovi za procenu kvaliteta peritoneumske dijalize	48
3.2.3.1 Transportni status	48
3.2.3.2 Klirensi uree i kreatinina	49
3.3 STATISTIČKA ANALIZA	51
4 R E Z U L T A T I	52
4.1 REZULTATI EKSPERIMENTALNE STUDIJE	52
4.2 REZULTATI KLINIČKE STUDIJE	59
4.2.1 Deskriptivna statistika bolesnika incidentne i prevalentne grupe	59
4.2.2 Kvalitet peritoneumske dijalize i rezidualna funkcija bubrega kod bolesnika prevalentne grupe	70
4.2.3 Koncentracije faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe	71
4.2.4 Korelacije parametara adekvatnosti peritoneumske dijalize i koncentracija faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe	75
4.2.5 Uticaj primenjenog lečenja na koncentracije faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe	81
4.2.6 Korelacije biohemijskih nalaza i koncentracija faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe	83
4.2.7 Parametri seruma i kvalitet peritoneumske dijalize bolesnika incidentne grupe	87
4.2.8 Koncentracije faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom, Ca ²⁺ u izlivenom dijalizatu i homocisteina u serumu bolesnika incidentne grupe	89
4.2.9 Korelacije koncentracija faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i biohemijskih parametara u serumu bolesnika incidentne grupe	93
4.2.10 Korelacije parametara adekvatnosti dijalize i koncentracija faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe	96

4.2.11 Uticaj peritonitisa i terapije stimulatorima eritropoeze na koncentracije faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom, Ca125 u izlivenom dijalizatu i homocisteina u serumu bolesnika incidentne grupe	108
4.2.12 Višestruka regresiona analiza kod bolesnika prevalentne grupe	109
4.2.13 Ishod bolesnika u prevalentnoj grupi	117
5 DISKUSIJA	123
5.1 EKSPERIMENTALNI MODEL	123
5.1.1 Hronični ne-uremijski instilacioni eksperimentalni model peritoneumske dijalize	123
5.1.2 Histološki nalazi peritoneumske membrane u hroničnom ne-uremijskom instilacionom eksperimentalnom modelu peritoneumske dijalize	127
5.2 KLINIČKA STUDIJA	130
5.2.1 Bolesnici	130
5.2.2 Kvalitet peritoneumske dijalize	131
5.2.3 Faktor rasta VEGF	134
5.2.4 Faktor rasta TGF- β 1	143
5.2.5 Marker integriteta trbušne maramice Ca125	146
5.2.6 Homocistein	147
5.2.7 Ishod bolesnika	148
6 ZAKLJUČCI	151
6.1 EKSPERIMENTALNA STUDIJA	151
6.2 KLINIČKA STUDIJA	152
7 LITERATURA	155
8 LISTA SKRAĆENICA	166

1

U V O D

Peritoneumska dijaliza (PD) je metoda zamene funkcije bubrega koju koristi oko 196000 bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću širom sveta, tj. oko 11% ukupne dijalizne populacije (1). Kada je pre nekoliko decenija počela da se primenjuje peritoneumska dijaliza obnovljeno je interesovanje za fiziologiju i biologiju različitih struktura trbušne maramice.

Najvažniji problemi tokom dugotrajnog lečenja peritoneumskim dijalizama su infekcije i promene trbušne maramice usled delovanja dijaliznih rastvora, a gubitak kvaliteta dijalize je uzrok povećanog morbiditeta i mortaliteta (2). Promene, koje se zapažaju u oko 50% bolesnika koji se dugotrajno leče peritoneumskim dijalizama, su progresivna fibroza, angiogeneza i degeneracija krvnih sudova, udružene sa ubrzanjem transporta materija i smanjenjem ultrafiltracije (3). Tokom protekle dve decenije, kvalitet dijalize je poboljšan, zahvaljujući primeni novih dijaliznih rastvora, savremenijih konekcija, automatske peritoneumske dijalize, racionalnih antibiotskih protokola, ali nije rešen problem oštećenja trbušne maramice (4). Zbog toga je neophodno dalje ispitivanje uzroka degenerativnih promena trbušne maramice, reakcije trbušne maramice na inflamaciju i infekciju, mehanizama peritoneumske fibroze i vaskularnog oštećenja (5).

1.1 HISTOLOGIJA PERITONEUMA

Peritoneum je mezotelna opna koja oblaže trbušnu duplju i embrionski potiče od mezenhima. Površina peritoneuma kod odrasle osobe je 1,7-2,0 m² i približna je površini kože (6).

Peritoneum grade parijetalni list (*peritoneum parietale*), koji predstavlja oko 10% površine, i visceralni list (*peritoneum viscerale*), kome pripada oko 90% ukupne površine peritoneuma. Parijetalni list peritoneuma oblaže unutrašnju površinu trbušnog zida, a visceralni organe abdomena. Oko 60% ukupne površine pripada ezofago-rektalnom peritoneumu i oko 15% prekriva jetru.

Između listova se nalazi virtuelna šupljina (*cavum peritonei*) koja sadrži do 100 ml serozne tečnosti, koja podseća na ultrafiltrat plazme, i aktivne ćelije. Visceralni list peritoneuma stvara duplikature koje nastaju njegovim prebacivanjem s jednog organa na drugi – mezenterijum (*omentum minus* i *omentum majus*). Predeo peritoneumske duplje između dijafragme i jetre, koji obložu dva lista peritoneuma,

naziva se subfrenični prostor i posebno je značajan zbog lokalizacije i fizioloških karakteristika.

Peritoneum je kod muškaraca neprekidan i potpuno ograničava zatvoreni peritoneumski prostor, dok je kod žena diskontinuiran u predelu abdominalnog otvora jajovoda (7, 8).

Peritoneum ima sličnu građu kao i druge mezotelne opne. Slobodnu površinu peritoneuma oblaže sloj mezotela, sa oko 4×10^9 ćelija, koje leže na bazalnoj membrani. Broj ćelija po jedinici površine veći je na visceralnom, nego na parijetalnom delu peritoneuma. Obe slobodne površine duplikature su pokrivena mezotelom. Debljina peritoneuma je različita na različitim delovima trbušne maramice. Građa parijetalnog peritoneuma prednjeg trbušnog zida je jednostavnija od građe visceralnog peritoneuma. Svaki ćelijski i vanćelijski element peritoneuma ima svoju fiziološku ulogu (7, 8).

1.1.1 Mezotelne ćelije

1.1.1.1 Struktura humanih mezotelnih peritoneumskih ćelija

Mezotelne ćelije su specijalizovane epitelne ćelije koje oblažu unutrašnje organe i telesni zid u šupljini peritoneuma, pleure, perikardijuma i sinovija. Kod različitih životinjskih vrsta, bez obzira na anatomsko poreklo, ove ćelije predstavljaju homogenu populaciju uglavnom pljosnatog – diskoidnog oblika. Kockaste mezotelne ćelije su raspoređene u okolini parenhimatoznih organa kao što su jetra i slezina, u blizini dijafragme i “belih mrlja” (*milky spots*) omentuma i u predelima oštećenja peritoneuma (Tabela 1).

Plazmalema ćelija mezotela ima tipičnu troslojnu građu i na apikalnoj strani (okrenutoj ka lumenu trbušne duplje) nalazi se negativno naelektrisan glikokaliks. Apikalna plazmalema formira brojne produžetke citoplazme – mikrovile, čija je gustina različita na pojedinom delovima peritoneuma. Dužina mikrovila je 2-3 μm , a prečnik 0,08 μm . Mikrovili povećavaju ukupnu lumensku površinu mezotela na oko 40 m^2 . Oni oslobađaju serozni eksudat i štite od trenja. Mezotelne ćelije na apikalnoj površini imaju po jednu mikrociliju i izražen citoskelet sastavljen od intermedijarnih vimentinskih i citokeratinskih filamenata. Prisustvo brojnih organela – razvijen Golgi-jev aparat, brojne cisterne granulisanog endoplazmatskog retikuluma, mitohondrije perinukleusno i ribozomi difuzno, kao i euhromatično jedro sa nukleolusima, ukazuje na sintetski veoma aktivne ćelije (9).

Tabela 1 - Karakteristike diskoidnih i kockastih mezotelnih ćelija

	MEZOTELNE ĆELIJE	
	diskoidne	kockaste
jedro	okruglo ili jajasto	krupno, prominentnog nukleolusa
mitohondrije	retke	mnogobrojne
endoplazmatski retikulum	oskudan	obilan
Golgi-jev aparat	slabo razvijen	dobro razvijen
vezikule	retke	mnogobrojne
mikrofilamenti	prisutni	mnogobrojni
mikrovili	mnogobrojni	mnogobrojni

Lamelarna tela (*lamellar body*) su loptaste ili ovalne organele prečnika oko 1,5 μm i višeslojne unutrašnje strukture, čiji presek podseća na presečenu glavicu luka. Nalaze se u citoplazmi svih mezotelnih ćelija, na njihovoj površini, u prostorima između mikrovila, iznad ili unutar ćelijskih spojeva, u intercelularnom matriksu vezivnog tkiva peritoneuma, u zidovima krvnih sudova. Sintetišu se u endotelnim ćelijama krvnih sudova i fibroblastima lamine proprije peritoneuma. Lamelarna tela sadrže po nekoliko osmofilnih koncentričnih struktura fosfolipidne prirode, koje su raspoređene u obliku dvoslojeva, od kojih je jedan taman, velike elektronske gustine, a drugi svetao, manje elektronske gustine. Ona nastaju iz multivezikalnih tela – većih vakuola u čijem telu se nalazi nekoliko manjih vezikula koje postepeno sazrevaju i prominiraju, stvarajući poluloptasta ispupčenja na lumenskoj površini ćelija. Sadržaj iz lamelarnih tela oslobađa se egzocitozom i privremeno se zadržava između mikrovila, koje razmiče i potiskuje. Vremenom lamelarna tela bubre, manjaju svoju geometrijsku strukturu i konačno se razgrađuju. Lamelarna tela se neprekidno stvaraju i menjaju u zoni trenja gde imaju ulogu „kotrljajućih ležajeva“, pošto se visceralni i parijetalni peritoneum neprekidno kreću u suprotnim smerovima. Makrofagi u peritoneumskoj tečnosti i u lamini propriji razgrađuju i recikliraju lamelarna tela (7, 8).

U mezotelnim ćelijama se nalaze mnogobrojne glatke i obložene pinocitozne vezikule loptastog ili ovalnog oblika, prečnika oko 70 μm , koje se grupišu (*cluster*) i međusobno povezuju, stvarajući transćelijske kanale i male otvore koji predstavljaju put za neprekidni prenos makromolekula sa jedne na drugu stranu mezotela (6, 7, 8).

1.1.1.2 Veze između mezotelnih ćelija

Ćelije mezotela se delimično preklapaju podsećajući na crepove na krovu. One su međusobno povezane različitim tipovima ćelijskih veza.

Nepermeabilne veze (*zonulae occludens, tight junctions*) zaptivaju međućelijski prostor, onemogućavaju prolaz materija između ćelija, pa se transport u epitelima gde se one nalaze odvija vrlo selektivno, transcelularnim putem. Ove veze plazmalemu dele na segmente (apikalni i bazolateralni) različitog sastava, koji se ne mogu mešati. *Zonula occludens* je najapikalnije lokalizovana ćelijska veza i čini je prsten oko ćelije, koji nastaje fuzijom spoljašnjih slojeva ćelijskih membrane susednih ćelija.

Adhezioni prstenovi ili *zonulae adherens* su kontinuirane trake aktinskih filamenata oko vrha svake epitelne ćelije. Trake susednih ćelija su međusobno povezane adhezivnim molekulama kadherina. Adhezioni prstenovi smešteni su neposredno ispod *zonulae occludens*, sa kojima čine takozvani zatvarački okvir ili spojni kompleks.

Dezmosomi (*maculae adherens*) su raspoređeni nasumično na bočnim stranama epitelnih ćelija i čvrsto povezuju ćelije u celine. Čine ih dve kružne ploče, povezane transmembranskim proteinima, koje se nalaze sa unutrašnje strane naspramnih membrana susednih ćelija. Hemidezmosomi spajaju epitelne ćelije sa bazalnom membranom.

Neksusi (*gap junction*) su komunikacijske veze u mezotelu, u kojima su plazmaleme približene, a uski kanali se pružaju od citoplazme jedne do citoplazme susedne ćelije i omogućavaju da mali, u vodi rastvoreni joni i molekuli prelaze iz jedne ćelije u drugu. Kanali su u susednim plazmalemama ograničeni sa po šest transmembranskih valjkastih subjedinica – *connexon*-a. Struktura nekusa je veoma dinamična. Oni se otvaraju ili zatvaraju prema promeni stanja ćelije. Eksperimenti dokazuju da se njihova propustljivost brzo i reverzibilno smanjuje kada je ćelija u sredini sa niskim pH.

Stome su valjkasti ili nepravilni otvori na mestu spoja nekoliko kuboidnih mezotelnih ćelija. Nastaju nepotpunim spajanjem produžetaka sa bočnih strana ćelija u mezotelu koji oblaže dijafragmu ili pelvis. Oblik i veličina stoma su jako varijabilni zahvaljujući aktinu koji se nalazi u produžecima. Pojedini produžeci se pružaju preko stome, stvarajući vrstu zalistaka. Peritoneumska duplja i lamina propija mezotela direktno komuniciraju u predelu stome, gde nema bazalne membrane, te se smatra da je apsorpcija rastvorenih materija najobilnija u predelu dijafragme i pelvisa.

Ćelije mezotela eksprimiraju međućelijske adhezivne molekule (*intercellular adhesion molecule, ICAM-1 i ICAM-2*) indukovane zapaljenskim procesom. Tokom infekcije peritoneuma, ćelije mezotela aktivno učestvuju u prolasku leukocita i u

njihovom priljubljanju za peritoneumsku membranu. Integrini su medijatori adhezije ćelija za matriks i ćelijsko-ćelijskog kontakta. Receptori za integrine su heterodimeri, koji se vezuju za fibronektin, fibrinogen, laminin i različite tipove kolagena. Kao adhezivni molekuli mogu delovati i imunoglobulini. Oni specifično prepoznaju i reaguju sa antigenima, receptori su na ćelijama, omogućavaju adheziju ćelija (prvenstveno fagocita i limfocita), koja ne zavisi od Ca^{++} (7, 8, 10).

1.1.1.3 Funkcije mezotelnih ćelija

Mezotel je neadhezivna površina koja olakšava pokrete intraabdominalnih organa i ima značajnu ulogu u održavanju homeostaze peritoneuma, kontroli tečnosti, prenosu rastvorenih materija, imunološkoj aktivnosti, prezentaciji antigena, inflamaciji i reparaciji oštećenja. Funkcije zavise od fenotipa ćelija mezotela.

Mezotelne ćelije luče glikozaminoglikane, proteoglikane i fosfolipide koji obezbeđuju glatki klizni glikokaliks koji štiti luminalnu površinu od abrazije, infekcije i diseminacije tumora. Mezotelne ćelije učestvuju u indukciji i rezoluciji inflamacije lučenjem mnoštva citokina, kimokina, faktora rasta koji moduliraju inflamaciju; regulišu proliferaciju, diferencijaciju i migraciju ćelija; moduliraju regeneraciju tkiva. Izlučeni kimokini pospešuju transmezotelni prolaz neutrofila i monocita do mesta oštećenja i migraciju leukocita iz krvnih sudova u peritoneumsku duplju.

Mezotelne ćelije sintetišu belančevine matriksa koje se deponuju u bazalnoj lamini na kojoj počivaju ćelije, pružaju strukturnu podršku i obezbeđuju građu trbušne maramice. Mezotelne ćelije moduliraju lokalno taloženje i klirens fibrina iz peritoneumske duplje. Njihova fibrinolitička aktivnost sprečava pojavu fibroznih adhezija između visceralnog i parijetalnog lista peritoneuma.

Mezotel modulira transport i prelazak ćelija i rastvorenih materija kroz peritoneumsku opnu preko pinocitoznih vezikula, intercelularnih spojeva i stoma. Transport se primarno odvija konvekcijom i difuzijom, jer je mezotel veoma propustljiva biološka barijera. Prisustvo negativno naelektrisanog perlekana na površini mezotelnih ćelija obezbeđuje selektivnu permeabilnost mezotela za belančevine plazme (9).

1.1.2 Bazalna membrana

Bazalna membrana parijetalnog i visceralnog peritoneuma je jednostruka, neprekidna, homogena i jako tanka, debljine 40 do 50 μm . Mezotel dijafragme i omentuma nema bazalnu membranu, a funkcionalni značaj toga je nejasan. Bazalnu

membranu stvaraju ćelije mezotela i ona se sastoji od kolagena, proteoglikana i laminina, za koje su vezane ćelije mezotela. Selektivno je propustljiva za određene molekule i ćelije, te omogućava prolazak makrofaga i limfocita, a sprečava fibroblaste iz vezivnog tkiva da dođu u dodir sa mezotelnim ćelijama. Tokom regeneracije oštećenog mezotela obezbeđuje podlogu duž koje se kreću ćelije mezotela do uspostavljanja prvobitne arhitekture tkiva (6, 7, 8).

1.1.3 Submezotelno vezivno tkivo

Lamina proprija (intersticijum ili stroma peritoneuma) je submezotelno vezivno tkivo debljine 1-2 mm, u kojem se nalaze kapilari i limfni sudovi. Ona je jedna od barijera za razmenu materija između krvi u kapilarima trbušne maramice i tečnosti u trbušnoj duplji. U lamini propriji se nalaze fibroblasti, makrofagi, mastociti, različite vrste leukocita i multipotentne ćelije. Fibroblasti sintetišu makromolekule ekstraćelijskog matriksa i citokine. Makrofagi se nalaze uglavnom ispod bazalne membrane i u neposrednoj okolini krvnih sudova, imaju fagocitnu ulogu i luče citokine. Mastoci se nalaze slobodni u vezivnom tkivu peritoneuma, u peritoneumskoj tečnosti i luče različite medijatore zapaljenja. Oni se aktiviraju i proliferišu pri oštećenju mezotela, ultrastrukturno podsećaju na miofibroblaste i poseduju citokeratin i vimentin.

U submezotelnom tkivu nalaze se komponente ekstraćelijskog matriksa: kolagena vlakna (većinom tipa I i III), koja daju čvrstinu; elastična vlakna, organizovana u mreže koja daju elastičnost; glikozaminoglikani (hijaluronska kiselina i hondroitin-sulfat) i proteoglikani, koji funkcionišu kao molekulsko sito koje reguliše prolazak molekula i ćelija kroz peritoneum.

Veličina i naelektrisanje makromolekula su bitni za prolazak kroz molekulsko sito. Vodena faza ekstraćelijskog matriksa omogućava transport molekula vode, elektrolita, gasova i drugih malih molekula između krvi i ćelija tkiva (6, 7, 8, 11).

1.1.4 Vaskularizacija peritoneuma

Celijačna, gornja mezenterična i donje mezenterične arterije snabdevaju krvlju visceralni peritoneum i intraperitoneumske organe. Cirkumfleksna, ilijačne, lumbalne, interkostalne i epigastrične arterije snabdevaju krvlju parijetalni peritoneum i muskulaturu.

Vene koje dreniraju visceralni peritoneum i intraperitoneumske organe ulivaju se u portnu venu. Venska krv iz parijetalnog peritoneuma uliva se u sistemske vene (12).

1.1.4.1 Mikrovaskularna mreža

Veliki mezenterijalni krvni sudovi koji snabdevaju intraperitoneumske organe se granaju na površini creva i stvaraju spletove kapilara. Mikrocirkulacijsku mrežu krvnih sudova peritoneuma čine: arteriole, terminalne arteriole, prekapilarni sfinkteri, arterio-venske anastomoze, kapilari i venule. Arteriole i arterio-venske anastomoze regulišu protok krvi kroz mikrocirkulacijsku mrežu, a prekapilarni sfinkteri u pojedinačnim kapilarima. Arterijsko-venske anastomoze mogu direktno usmeriti krv iz arteriola u venule. Protok krvi kroz mrežu je promenljiv, uz pokretanje, zaustavljanje i/ili promenu smera kretanja tečnosti u pojedinim kapilarima.

Zidovi terminalne arteriole imaju delimično diskontinuiran mišićni sloj medije i mestimično se sastoje samo od endotela i bazalne membrane. Ovakva struktura zida krvnog suda pogoduje razmeni materija. Inače, najveći deo razmene se odvija kroz zidove kapilara i postkapilarnih venula, a njihovu propustljivost reguliše endotel.

Endotel kapilara peritoneuma je najvećim delom kontinuiranog tipa i mestimično fenestriran i diskontinuiran, slično sinusoidima jetre. Tipične ćelijske veze su *tight junctions*. Na površini endotela okrenutoj ka lumenu nalazi se elektronegativno naelektrisan glikokaliks, koji je fiziološka barijera za anjonske proteine. U endotelnim ćelijama difuzno su raspoređene brojne pinocitozne vezikule koje se mestimično spajaju u nizove i formiraju transendotelne kanale. One zauzimaju oko 7% ukupne zapremine endotelne ćelije, što dokazuje intenzivnu transcitozu. Fenestre prečnika 20-120 nm, otvorene ili prekrivene dijafragmom, dinamične su tvorevine i broj im se povećava tokom akutnog zapaljenja. U fenestriranom endotelu ima mnogo manje vezikula nego u kontinuiranom, a kontinuirani endotel permeabilniji je od fenestriranog (12).

1.1.4.2 Limfotok peritoneuma

Limfni sudovi peritoneuma omogućavaju održavanje relativno male zapremine tečnosti u peritoneumskoj duplji. Višak tečnosti i proteini se vraćaju u sistemsku cirkulaciju uglavnom kroz specijalizovane stome mezotela dijafragme i karlice, dok se vrlo mali deo apsorbuje limfnim kapilarima u parijetalnom peritoneumu, omentumu i mezenterijumu. Limfotok peritoneuma se sastoji od: preinicijalnih i inicijalnih limfnih sudova, limfnih kapilara, limfnih lakuna i sabirnih limfnih sudova.

Preinicijalni i inicijalni limfni sudovi su potpuno otvorena mreža kanala lokalizovana u perivaskularnom prostoru venula.

Limfni kapilari su obično većeg promera (15-40 μm) i nepravilnijeg lumena od krvnih kapilara. Lumensku stranu oblaže kontinuirani sloj tankih endotelnih ćelija, sličnih endotelnim ćelijama kapilara i bogatih vezikulama i diskontinuirana bazalna membrana. Najčešći tip intercelularnih veza su okludentne veze, ređe *zonulae adherens*.

Limfne lakune imaju oblik spljoštenih izduženih cisterni dužine 0,3-0,6 cm i karakteristične su za peritoneum dijafragme. Raspoređene su paralelno sa uzdužnom osom mišićnih vlakana. Endotel limfnih lakuna je tanak, bazalna membrana je diskontinuirana. Ivice susednih ćelija se preklapaju, pa su bazalni međućelijski prostori otvoreni. Limfne lakune se nalaze neposredno ispod stoma mezotela. Pri tom se ne stvaraju specifične ćelijske veze i između mezotelnih i endotelnih ćelija može da se nađe samo tanka mreža vezivnih vlakana. Mezotelne ćelije stome, tanak sloj vezivnog tkiva i endotelne ćelije lakune formiraju tzv. limfnu drenažnu jedinicu (*lymphatic drainage unit*) - kanal kojim komuniciraju peritoneumska duplja i lumen lakuna.

Limfne lakune se povezuju međusobno sabirnim limfnim sudovima u pleksus limfnih sudova, lokalizovan u dubini lamine proprije peritoneuma, povezan preko limfnih sudova pleure sa limfnim čvorovima medijastinuma, desnim limfnim duktusom i sistemskim krvotokom. Limfa iz ostalih delova peritoneuma dospeva u sistemsku cirkulaciju preko duktusa toracikusa. Sabirni limfni sudovi su širokog lumena i sastoje se od endotela obavijenog slojem glatkih mišićnih ćelija.

Na protok limfe kroz peritoneum utiču intraperitoneumski hidrostatski pritisak, frekvenca respiracija, položaj tela, brojni lekovi.

1.1.4.3 Bele mrlje

Omentum sadrži specifične strukture nazvane "bele mrlje" (*milky spots*), mesta imuno-neuroendokrine interakcije, koje su agregati ćelija prethodnika makrofaga i limfocita. Limfociti okružuju glomerule omentuma, karakteristično izuvijane kapilare, koji se nalaze neposredno ispod mezotela i arteriole. Makrofagi su grupisani uz površinu belih mrlja u peritoneumu i usmereni su prema peritoneumskoj duplji, a odsustvo bazalne membrane u predelu belih mrlja olakšava njihovu migraciju u duplju peritoneuma. Fina mreža retikularnih vlakana i amijelinska nervna vlakna nalaze se između ćelija belih mrlja (13).

1.2 TRANSPORT VODE I RASTVORENIH MATERIJA KROZ PERITONEUMSKU MEMBRANU U TOKU PERITONEUMSKE DIJALIZE

Tokom peritoneumske dijalize, razmena vode i rastvorenih materija obavlja se preko trbušne maramice, koja se sastoji od mezotela, intersticijumskog prostora i endotelnih ćelija mikrovaskularnog zida. Prenos vode i rastvorenih materija zavise od permeabilnosti trbušne maramice (selektivnost uslovljena veličinom rastvorenih materija) i od hidrauličke permeabilnosti (što predstavlja otpor trbušne maramice prenosu tečnosti).

Prema teoriji o tri pore, endotelne ćelije sa svojim malim interendotelnim porama su najvažnije strukture (14, 15) za transport malih materija rastvorenih u vodi (*solute coupled water transport*, SCWT). Zastupljenost velikih pora u peritoneumu je mala i one nemaju značaja za prenos vode, ali propuštaju makromolekule. Intraendotelni akvaporini su toliko mali da propuštaju samo tečnost – slobodan prenos vode (*solute-free water transport*, FWT). U razmeni vode i rastvorenih materija diskutabilna je uloga peritoneumskog endotelnog glikokaliksa.

Transport rastvorenih materija u vodi i slobodan prenos vode čine zajedno ukupnu transkapilarnu ultrafiltraciju (*total transcapillary ultrafiltration*, TCUF). Kada se kao osmotski agens primeni glukoza, ukupnu transkapilarnu ultrafiltraciju uslovljava osmotski koeficijent refleksije (σ), koji predstavlja specifični otpor trbušne opne prenosu glukoze iz dijalizne tečnosti u cirkulaciju, uslovljen osmotskim kristaloidnim gradijentom glukoze. Pošto su molekuli glukoze toliko sitni da lako prolaze kroz male pore, koeficijent σ zavisi od funkcije akvaporina-1 (*aquaporin-1*, AQP-1). Takođe je značajna osmotska sila ultrafiltracije, koja je proizvod koeficijenta σ , hidrauličke permeabilnosti i vaskularne površine raspoložive za prenos vode (14, 15).

1.3 RASTVORI ZA PERITONEUMSKU DIJALIZU

Konvencionalni rastvori za peritoneumsku dijalizu, koji su u najširoj upotrebi, imaju elektrolitni sastav sličan serumu: blago su hiponatremični i hipohloremični, jer je potrebno da se otkloni višak natrijuma i hlorida iz organizma; ne sadrže kalijum; koncentracija magnezijuma odgovara koncentraciji ovog jona u serumu; koncentracija jonizovanog kalcijuma je nešto viša u odnosu na kalcemiju, da bi se obezbedilo blago opterećenje kalcijumom tokom peritoneumskih izmena i prevencija razvoja

sekundarnog hiperparatireoidizma. Konvencionalni rastvori za PD su kiselog pH, a njihova kiselost sprečava karamelizaciju glukoze tokom procesa sterilizacije toplotom. Osmotski agens je glukoza i to u koncentracijama koje su 15 do 40 puta veće od fizioloških, pa su bolesnici na hroničnom programu PD izloženi opterećenju od čak 100 kg glukoze godišnje (16).

Poslednjih godina proizvedeni su dijalizni rastvori neutralnog pH puferovani bikarbonatom i laktatom, sa smanjenim sadržajem degradacionih proizvoda glukoze (Tabela 2). *In vitro*, *in vivo* i kliničke studije dokazale su bolju biokompatibilnost ovih rastvora u odnosu na konvencionalne dijalizne rastvore (17, 18, 19, 20). Proizvedeni su i rastvori koji koriste kao osmotski agens ikodekstrin ili amino-kiseline umesto glukoze.

Ikodekstrin je polimer glukoze molekulske težine 14-18 kD dobijen hidrolizom skroba, koji ne podleže degradaciji u trbušnoj duplji i ne resorbuje se u cirkulaciju zbog velike molekulske težine, te zadržava osmotsku aktivnost tokom 10 do 14 časova.

Dijalizni rastvori sa amino kiselinama su mešavina esencijalnih i neesencijalnih amino kiselina. U eksperimentalnim modelima dokazano je da ovi rastvori izazivaju manje morfološke promene u odnosu na konvencionalne rastvore. U kliničkim uslovima obezbeđuju 25% dnevnih potreba belančevina bez opterećenja fosfatima (21).

Tabela 2 – Sastav rastvora za peritoneumsku dijalizu

sastav rastvora	konvencionalni	sa amino-kiselinama	sa ikodekstrinom	neutralnog pH,[↓]GDP
Na⁺ (mmol/l)	132-134	133	133	132-134
Ca⁺⁺ (mmol/l)	1,25-1,75	1,25	1,75	1,25-1,75
Mg⁺⁺ (mmol/l)	0,25-0,5	0,25	0,25	0,25-0,5
Cl⁻ (mmol/l)	95-103,5	96	96	95-101,5
laktati (mmol/l)	35-40	40	35	10-15
HCO₃⁻ (mmol/l)	-	-	-	20-25
pH	5,5	6,6	5,5	7-7,4
osmotski agens (%)	glukoza 1,25-4,25	amino-kiseline 1,1	ikodekstrin 7,5	glukoza 1,25-4,25
osmolalnost (mOsmol/l)	344-483	342	282	344-483

Legenda: GDP = degradacioni proizvodi glukoze (glucose degradation products)

1.4 POREMEĆAJ ULTRAFILTRACIJE

Kada se PD dugotrajno primenjuje progresivno se razvijaju funkcionalne i strukturne promene trbušne maramice (16, 22). Transport malih molekula kroz peritoneumsku opnu ubrzava se posle izvesnog vremena na hroničnom tretmanu PD. Povećana permeabilnost za male molekule dovodi do brze absorpcije glukoze iz ulivene dijalizne tečnosti, ranog gubitka osmotskog gradijenta i smanjenja ultrafiltracije (16).

Postoje različite definicije "poremećaja ultrafiltracije", što otežava poređenje različitih studija. Pojedini autori smatraju da je poremećaj ultrafiltracije nemogućnost održavanja suve telesne mase, neregulisan krvni pritisak i nalaz testastih otoka uprkos primeni hipertoničnih rastvora za PD i restrikcije unosa soli i vode. Prema ovoj definiciji, starije studije su dijagnostikovale kumulativni rizik od poremećaja ultrafiltracije kod 10% bolesnika posle godinu dana lečenja ili kod 30% posle 2 godine (23), odnosno kod 2,6% posle godinu dana, kod 9,5% posle 2 godine i kod 30% bolesnika posle 6 godina lečenja peritoneumskim dijalizama (24).

Poremećaj ultrafiltracije se preciznije dijagnostikuje pomoću testa peritoneumskog ekvilibrijuma (*peritoneal equilibrium test*, PET) (25, 26, 27, 28).

Zadržavanje dijalizne tečnosti posle četvoročasovne dvolitarske izmene dijalizatom sa 1,36% glukoze se registruje kod oko 57% bolesnika lečenih hroničnim programom peritoneumske dijalize tokom 3 do 178 meseci, ali deo ovakvih bolesnika nema kliničke probleme (29). Ultrafiltracija manja od 400 ml posle četvoročasovne izmene dijalizatom sa 3,86% glukoze je znak ozbiljnog poremećaja. Pojedini autori dijagnostikuju ovakav poremećaj ultrafiltracije kod oko 35% bolesnika posle 6 godina lečenja peritoneumskim dijalizama (30). Ultrafiltracija manja od 100 ml posle četvoročasovne izmene dijalizatom sa 2,27% glukoze je takođe znak ozbiljnog poremećaja. Oko 14% bolesnika ima ovakav poremećaj ultrafiltracije posle 6 godina lečenja peritoneumskim dijalizama (31, 32).

1.4.1 Uzroci poremećaja ultrafiltracije

Uzroci poremećaja ultrafiltracije su mnogobrojni: A) mehanički problemi: malfunkcija peritoneumskog katetera, kile ili ekstraperitoneumsko curenje dijalizata; B) smanjenje površine i permeabilnosti trbušne maramice; C) ubrzana difuzija malih molekula, rani gubitak osmotskog gradijenta i smanjenje transkapilarne ultrafiltracije; D) povećanje absorpcije preko limfnih sudova; E) smanjenje transcelularnog prenosa

vode kroz akvaporinske kanale. Relativni doprinos pojedinačnih problema za razvoj poremećaja ultrafiltracije je ispitan u samo nekoliko studija (23, 33, 34). Kod 13 bolesnika na hroničnom programu kontinuirane ambulatorne peritoneumske dijalize (*continuous ambulatory peritoneal dialysis*, CAPD) sa poremećajem ultrafiltracije nađeno je da je jedan bolesnik imao veliku vaskularnu površinu peritoneuma, 2 povećanu limfatičnu resorpciju, 3 smanjeni transcelularni transport vode, a 7 kombinaciju navedenih faktora (28).

Studije su uglavnom dokazale da se kod bolesnika na dugotrajnoj peritoneumskoj dijalizi sa poremećajem ultrafiltracije smanjuje slobodni prenos vode u ukupnoj transkapilarnoj ultrafiltraciji (35) zbog smanjenja koeficijenta refleksije glukoze, mada se ne može isključiti smanjenje hidrauličke permeabilnosti (36).

Generalno, malobrojna su dugotrajna longitudinalna ispitivanja promena transporta materija kroz peritoneumsku membranu u toku peritoneumske dijalize.

Kristaloidni osmotski gradijent koji zavisi od efektivne vaskularne površine trbušne maramice i uslovljava slobodni prenos vode postepeno se smanjuje tokom trajanja izmene. Slobodan transport vode i prenos materija najbrži su tokom prvog sata izmene (37). Posle 120 minuta u proseku, postiže se ekvilibrijum zato što je osmotski gradijent niži. Kod dugotrajnog programa peritoneumske dijalize, inicijalni porast je blaži i dostiže maksimalne vrednosti posle 60 minuta. Efektivna vaskularna površina trbušne maramice je značajna, kako dokazuje brži transportni status za male molekule u grupi bolesnika sa poremećajem ultrafiltracije u odnosu na grupu bez poremećaja ultrafiltracije.

Transport materija rastvorenih u vodi se postepeno linearno povećava tokom trajanja izmene zato što zavisi od različitih osmotskih sila. Najmanji obim transporta u grupi sa poremećajem ultrafiltracije objašnjava se činjenicom da su svi mehanizmi poremećeni. Obim transporta je sličan u grupi bolesnika sa kratkotrajnim dijaliznim stažom i u grupi sa dugim dijaliznim stažom bez poremećaja ultrafiltracije. Veća efektivna vaskularna površina peritoneuma obezbeđuje obilniji transport materija rastvorenih u vodi i osmotski gradijent ima ograničeni značaj za ovaj mehanizam prenosa. Studija koja je obuhvatila 358 bolesnika na hroničnom programu peritoneumske dijalize je pratila tokom 5 godina funkciju trbušne maramice pomoću četvorosatne izmene dijalizatom sa 3,86% glukoze. Zapaženo je da su se transport materija, slobodan prenos vode, transport materija rastvorenih u vodi i ukupna transkapilarna ultrafiltracija postepeno smanjivali tokom perioda praćenja. Interesantno je da su se slobodan prenos vode i ukupna transkapilarna ultrafiltracija blago povećali tokom prve godine ispitivanja. Razlog za to može biti blago smanjenje efektivne površine razmene, što je omogućavalo

većoj količini glukoze unutar trbušne duplje da održi kristaloidni osmotski gradijent, ili se radi o početnoj aktivaciji akvaporina-1 (*aquaporin-1*, AQP-1) (38).

1.4.2 Klinički značaj poremećaja ultrafiltracije

Poremećaj ultrafiltracije je faktor rizika za ishod metode i bolesnika (16). Poremećaj ultrafiltracije uzrokuje hipertenziju i stvaranje otoka (23). Povećana resorpcija glukoze dovodi do gubitka apetita, razvoja pothranjenosti i aterogenog lipidnog profila. Obilni su gubici belančevina preko trbušne maramice (23). Kod ovih bolesnika su česte kardiovaskularne komplikacije (38). Dvogodišnje preživljavanje bolesnika se smanjuje sa 91 na 71%, a opstanak metode sa 94 na 68% kod bolesnika sa poremećajem ultrafiltracije u odnosu na ostale bolesnike (24). Poremećaj ultrafiltracije je uzrok promene modaliteta dijalize u 16 – 27% slučajeva. S obzirom da se prevalenca poremećaja ultrafiltracije povećava tokom hroničnog programa peritoneumske dijalize, on vremenom postaje najvažniji uzrok neuspeha metode lečenja. Poremećaj ultrafiltracije je uzrok neuspeha metode lečenja u 23,5% slučajeva kod ukupne populacije na programu peritoneumske dijalize i u 51,4% bolesnika koji su lečeni peritoneumskim dijalizama duže od 6 godina (16).

1.5 MORFOLOŠKE PROMENE PERITONEUMSKE MEMBRANE U TOKU DUGOTRAJNOG LEČENJA PERITONEUMSKIM DIJALIZAMA

Histopatološke promene trbušne maramice na dugotrajnom lečenju peritoneumskim dijalizama su: denudacija mezotela, submezotelna fibroza i umnožavanje ekstraćelijskog matriksa, fibroza intersticijuma, gubitak mezotela, neoangiogeneza, subendotelna hijalinizacija postkapilarnih venula, duplikacija bazalne membrane kapilara, ekspanzija ekstraćelijskog matriksa unutar medije arteriola, deponovanje kolagena tipa IV u arterijskom zidu i deponovanje krajnjih proizvoda glikolizacije u zidu krvnih sudova. Promene podsećaju na dijabetiformnu mikroangiopatiju (39, 40).

1.5.1 Morfološke promene humanih peritoneumskih mezotelnih ćelija

Produženo izlaganje mezotelnih ćelija peritoneuma dijaliznim rastvorima uzrokuje: uvećanje ćelija, prelazak iz skvamoznog u kockasti oblik, povećanje odnosa jedro/citoplazma, vakuolizaciju, aktivaciju, gubitak mikrovila, raskidanje veza između ćelija i matriksa i ćelijsko-ćelijskih veza i odlublivanje ćelija u peritoneumsku duplju. Obim deskvamacije mezotelnih ćelija sa trbušne maramice korelira sa vaskulopatijom i zadebljanjem submezotelnog vezivnog tkiva (16, 41).

Deskvamovane ćelije podležu apoptozi i/ili fagocitozi i uklonjene su iz trbušne duplje ili ostaju vitalne u suspenziji i održavaju određene funkcije. Mezotelne ćelije izolovane iz izlivenog dijalizata i kultivisane u *in vitro* uslovima su delimično vitalne. Deskvamovane humane peritoneumske mezotelne ćelije su fenotipski raznovrsne i različite su morfologije: kockaste epiteoidne, krupne senescentne sa mnogobrojnim jedrima i vakuolama, ili elongirane fibroblastne ćelije. Pretpostavlja se da jedan deo ćelija odlubljenih u trbušnu duplju služi za remezotelizaciju oštećenog sloja. Mezotelne ćelije iz očuvanih delova peritoneuma se odvajaju, migriraju i priljubljuju se za oštećene delove, gde proliferišu da bi popunile oštećenja (41).

Humane mezotelne peritoneumske ćelije su prisutne u malom broju u izlivenom dijalizatu (25569 ± 2971 u noćnoj izlivenoj kesi), a broj zavisi od dužine izmene, koncentracije glukoze u dijalizatu, položaja bolesnika tokom izlivanja i učestalosti peritonitisa. Prevalenca ne-kockastih humanih peritoneumskih mezotelnih ćelija u izlivenom dijalizatu u korelaciji je sa dužinom dijaliznog programa i incidencom peritonitisa (41, 42).

1.5.1.1 Kultura humanih mezotelnih peritoneumskih ćelija

Strukturne i funkcionalne karakteristike, kako u bazalnim tako i u stimulisanim uslovima, mogu se proučavati u kulturama ćelija izolovanim iz izlivenog dijalizata, iz omentuma ili iz neonatalnog tkiva eksperimentalnih životinja. Postupak kultivisanja ćelija je dobro poznat. Treba voditi računa o mogućoj kontaminaciji mezotelnih ćelija fibroblastima ili endotelnim ćelijama. Fibroblasti se prepoznaju po izduženom obliku i negativnom bojenju na citokeratin, dok su endotelne ćelije karakteristične po sposobnosti stvaranja struktura sličnih tubulima u *in vitro* uslovima (42). Primena različitih ćelijskih markera i upotreba elektronske mikroskopije precizno razlikuje humane peritoneumske mezotelne ćelije od endotelnih ćelija, čijim se klasičnim markerom smatrao von *Willenbrand*-ov faktor, mada je on prisutan u manjoj meri i na različitoj lokaciji i na mezotelnim ćelijama (42).

Proliferativni potencijal humanih peritoneumskih mezotelnih ćelija u kulturi je ograničen. Morfološke osobine ovih ćelija se održavaju do druge ili treće generacije, a zatim se ćelije izdužuju i umnožavaju se vakuole i jedra. Posle šeste generacije ćelije gube sposobnost adhezije na substrat. Senescentnost koja se ispoljava posle određenog broja deoba ćelije naziva se replikativnom, rezultat je izraženih telomera i praćena je pojavom inflamatornog fenotipa. Takođe, senescentnost se može ispoljiti zbog neadekvatnih uslova kultivisanja usled oksidativnog stresa indukovano inhibitorom kinaze p16 i/ili zbog starosti omentuma. Upotreba mezotelnih ćelija neonatalnog tkiva eksperimentalnih životinja obezbeđuje ćelije koje se brzo dele i stvaraju besmrtnu ćelijsku liniju bez starenja ćelija (9, 42).

Broj ćelija mezotelnog pokrivača zavisi od ravnoteže između proliferacije i umiranja ćelija usled apoptoze, sekundarne nekroze, čiste nekroze ili mitotične katastrofe (43). U normalnim uslovima, mezotelne ćelije slabo proliferišu i samo 0,1– 0,5% ćelija se nalazi simultano u fazi deobe. Oštećenje peritoneuma značajno pospešuje proliferaciju i ćelijsku smrt, uz promene integriteta trbušne maramice. Obim ćelijske proliferacije je dobar marker biološkog odgovora na bilo kakvu stimulaciju (42, 43).

Proliferacija humanih mezotelnih ćelija posle stimulacije u toku peritoneumske dijalize (visoke koncentracije glukoze, degradacioni proizvodi glukoze, krajni proizvodi glikolizacije belančevina, laktatni ili bikarbonatni puferi u dijalizatu) se proučava pomoću kriva rasta, koje pokazuju fazu mirovanja ili zaostajanja (vreme adaptacije na kulturu, adhezije i širenja na substrat), fazu eksponencijalnog rasta broja ćelija i fazu platoa (konfluiranje kolonija, usporavanje ili prestanak proliferacije). Korelacija između ćelijske proliferacije i promena morfologije ćelija, povećanje broja jedara i vakuola, promene sinteze belančevina i mRNK u kontrolisanim eksperimentalnim uslovima pružaju dragocene informacije o biologiji mezotelnih ćelije pod uticajem različitih stimulusa (5, 41, 42).

1.5.1.2 Epitelno-mezenhimalna tranzicija

Mezotelne ćelije peritoneuma podležu procesu epitelno-mezenhimalne tranzicije tokom izlaganja rastvorima za peritoneumsku dijalizu i/ili usled peritonitisa (44, 45, 46). Mnogobrojne kliničke studije su dokazale da epitelne ćelije u različitim organima (na primer u bubrežnim tubulima, očnom sočivu, alveolama, peritoneumu) doprinose fibrozi tkiva tranzicijom u miofibroblast i u zreli fibroblastni fenotip (47).

Epitelno-mezenhimalna tranzicija (EMT) je proces u kome ćelije koje su normalno nepokretne, kao što su epitelne ćelije, podležu određenim morfološkim promenama i postaju pokretne. Proces je neophodan u embriogenezi i većina zrelih

tkiva nastaje putem serije kontrolisanih epitelno-mezenhimalnih tranzicija. Ovaj proces je koristan u zreloom dobu u zarastanju rana i oporavku tkiva, a patološki je u karcinogenezi i u fibrozi (47). Tokom procesa EMT-e ćelije gube svoje međusobne veze, veze sa vezivnim tkivom i polarnost; razgranata vlakna aktina se reorganizuju unutar ćelije, koja poprima izduženi oblik, bazalne membrane se razlažu; ćelije migriraju (48). Promena fenotipa i detekcija pokreta ćelija se mogu analizirati u eksperimentalnim uslovima, ali je praktično nemoguće posmatrati ih u in vivo uslovima, naročito u humanojoj populaciji, jer su tkiva retko dostupna u određenoj fazi EMT-e i ultrastrukturne promene mogu da se tumače na različite načine.

Dijagnoza EMT-e u in vivo uslovima se postavlja pomoću serije biomarkera: gubitak epitelnog adhezionog molekula E-kadherina, *zonule occludens-1* (ZO-1) i citokeratina i pojava mezenhimalnih citoskeletalnih markera, fibroblast-specifičnog proteina 1 (*fibroblast-specific protein-1*, FSP-1) i vimentina, uz održavanje epitelijalnih markera HSP47 i kolagena tipa 1 (49). Za sada najspecifičniji biomarker fibroblasta i obavljene EMT-e je FSP-1. Mada se često koristi za otkrivanje fibroblasta, alfa-glatkomišićni aktin (*α-smooth muscle actin*, α-SMA) nije specifičan za fibroblaste, detektuje se samo na jednom procentu zrelih fibroblasta, ali ne i na ćelijama u tranziciji (49).

Obeležavanje ćelijskih loza omogućilo je detekciju biomarkera i praćenje EMT-e u in vivo uslovima. Upotrebljeni su transgenetski miševi koji ekspimiraju β-galaktosidazu (β-gal) u određenim linijama epitelnih ćelija i praćen je razvoj tih ćelija tokom procesa fibroze. U ovim modelima zapažena je pojava ćelija sa markerima fibroblasta, a β-gal pozitivnost dokazuje epitelno poreklo (50).

Sinteza E-kadherina regulisana je na genetskom nivou, intraćelijskom i ekstraćelijskom klivažom, a može da je inhibira brojna porodica belančevina koje vezuju DNK (Snail, Slug, Twist, ZEB1 i ZEB2). Ove proteine moduliraju mnogobrojni proinflamatorni citokini i različiti faktori rasta: transformišući faktora rasta - β (*transforming growth factor-β*, TGF-β), faktor rasta trombocita (*platelet-derived growth factor*, PDGF), faktor rasta endotela (*endothelial growth factor*, EGF), faktor rasta sličan insulinu-II (*insulin-like growth factor II*, IGF-II), faktor rasta fibroblasta (*fibroblast growth factor*, FGF), faktor rasta hepatocita (*hepatocyte growth factor*, HGF), Wnt belančevina (5, 49).

Smatra se da je TGF-β vodeći induktor EMT-e u različitim tkivima, među kojima je i trbušna maramica, preko faktora transkripcije Smad-3. Međutim, EMT koja zavisi od Smad-3 zapažena je u Smad-3 *knockout* pacovima sa povišenom lokalnom ekspresijom TGF-β u očnom sočivu. U kulturama mezotelnih ćelija, mTOR inhibitori

(rapamycin) održavaju ekspresiju E-kadherina i pored delovanja TGF- β , a koštani morfogogenetski protein-7 (*bone morphogenic protein*, BMP-7) je antagonist TGF- β i štiti trbušnu maramicu od procesa EMT-e (51).

Ćelijska invazija je ključni trenutak tokom EMT-e. Metaloproteinaze matriksa 2 (*matrix metalloproteinase-2*, MMP-2) i 9 (MMP-9) su gelatinaze sa specifičnim afinitetom za kolagen tipa IV, imaju kolagenazni efekat, vrše klivažu prekursora faktora rasta i proteina koji vezuju faktore rasta i utiču na dejstva drugih receptora i proteinaza. U kulturama tubulskih ćelija bubrega MMP-2 specifično učestvuje u EMT-u, a inhibicija MMP-2 smanjuje EMT-u. Inhibicija metaloproteinaza smanjuje angiogenezu i fibrozu u modelu fibroze trbušne maramice kod pacova izazvane injekcijama hloreksidin-glukonata (52).

Novije studije su dokazale jasnu uzročnu vezu između visokih koncentracija glukoze i degradacionih proizvoda glukoze (*glucose degradation products*, GDP) iz konvencionalnih rastvora za peritoneumsku dijalizu i EMT-e u trbušnoj maramici. Analiza mezotelnih ćelija koje su izolovane iz noćnog izlivenog dijalizata, u kulturama mezotelnih ćelija i u *ex vivo* uslovima, dokazala je izraženiju EMT-u kod bolesnika lečenih konvencionalnim dijaliznim rastvorima u odnosu na bolesnike lečene rastvorima sa sniženom koncentracijom GDP-a. U studiji iz 2005. godine, praćeno je dejstvo konvencionalnih dijaliznih rastvora na morfološke promene humanih peritoneumskih mezotelnih ćelija i na nivo karcinomskog antigena 125 (*cancer antigen 125*, Ca125) u izlivu dijalizatu (53). Studija publikovana 2011. godine dokazala je da tokom primene konvencionalnih dijaliznih rastvora ćelije mezotela gube epiteloidni fenotip, smanjeno ekspimiraju E-kadherin, povećano ekspimiraju TGF, faktor rasta vaskularnog endotela (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), fibronektin i interleukin-8 (*interleukin-8*, IL-8), što dokazuje promenu fenotipa ka fibroblastnom (46).

1.5.2 Vaskulopatija

Vaskulopatija trbušne maramice bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama podseća na promene u dijabetesnoj mikrovaskularnoj bolesti, sa različitim stepenom subendotelne hijalinizacije uglavnom venula, a nešto ređe i arteriola. Hijalini materijal je PAS pozitivan i depoziti mogu biti izraženi i uzrokuju distorziju i suženje sve do potpune obliteracije krvnih sudova (40, 54).

Početak ovog veka, multicentrična studija u dvadeset dijaliznih centara u Evropi i Japanu, koja je obuhvatila 212 osoba: 9 zdravih, 25 sa preterminalnom bubrežnom slabošću, 48 na hroničnom programu hemodijalize i 130 na hroničnom lečenju PD, omogućila je histološku analizu biopsiranih uzoraka trbušne maramice u različitim grupama ispitanika i klasifikaciju vaskulopatije u 4 grupe (Tabela 3). Ispitivano je tkivo: 1. zdravih davalaca bubrega; 2. uremičara u pre-terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji, u trenutku plasiranja katetera za peritoneumsku dijalizu ili prilikom *pre-emptive* transplantacije; 3. bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću na hroničnom programu hemodijalize; 4. bolesnika na hroničnom programu peritoneumske dijalize prilikom transplantacije bubrega, elektivnih operacija, repozicije peritoneumskog katetera ili evakuacije peritoneumskog katetera zbog poremećaja ultrafiltracije i/ili drugih problema na terenu dijaliznog programa (40, 54).

Tabela 3 - Stepen vaskulopatije trbušne maramice bolesnika lečenih hroničnim peritoneumskim dijalizama

stepen	histološke karakteristike
1	submezotelni hijalini depoziti debljine < 7 μ m
2	submezotelni hijalini depoziti debljine > 7 μ m, bez distorzije i suženja
3	distorzija krvnog suda i suženje lumena
4	obliteracija lumena krvnog suda

U uzorcima trbušne maramice zdravih osoba nije nađena vaskulopatija. Ukupna prevalenca vaskulopatije kod bolesnika sa uremijom koji nisu lečeni peritoneumskim dijalizama bila je 28%, slično kao kod bolesnika na hroničnom programu PD kraće od 24 meseca – 29%. Prevalenca je rasla sa dužinom hroničnog programa peritoneumske dijalize, sve do 98% kod bolesnika koji su lečeni peritoneumskim dijalizama duže od 6 godina. Nađena je korelacija između stepena vaskulopatije i dužine dijaliznog programa, uz pogoršanje promena tokom trajanja lečenja. Kod bolesnika na peritoneumskoj dijalizi kraćoj od 24 meseca: 71% nisu imali vaskulopatiju, 27% su imali vaskulopatiju 1. i/ili 2. stepena, nijedan nije imao vaskulopatiju 3. stepena i dvoje su imali vaskulopatiju 4. stepena. Kod 71% bolesnika koji su lečeni peritoneumskim dijalizama duže od 72 meseca, nađena je vaskulopatija 3. i 4. stepena, a obim histoloških promena zavisio je od komorbiditeta. U grupi biopsija uzetih tokom transplantacije ili elektivnih hirurških intervencija bolesnika na hroničnom programu PD, 52% slučajeva su bili bez vaskulopatije, a vaskulopatija 3. ili 4. stepena je nađena samo u 7% slučajeva. Kod bolesnika sa poremećajem ultrafiltracije

vaskulopatija 3. ili 4. stepena je nađena u 74% uzoraka.

Analizirana je takođe gustina krvnih sudova. Značajno veća gustina krvnih sudova i značajna korelacija sa stepenom fibroze su nađene u uzorcima trbušne maramice bolesnika na hroničnom lečenju PD sa poremećajem ultrafiltracije (40).

1.5.3 Fibroza

U već citiranoj grupi zdravih ispitanika i bubrežnih bolesnika ispitane su i karakteristike submezotelnog tkiva trbušne maramice (40, 41). Fibroza je definisana kao debljina submezotelnog tkiva peritoneuma $>150 \mu\text{m}$ (što je bila najveća vrednost izmerena u grupi zdravih ispitanika). Prosečna debljina submezotelnog tkiva peritoneuma je: $50 \mu\text{m}$ ($25 - 135 \mu\text{m}$) u grupi zdravih ispitanika; $140 \mu\text{m}$, ($60 - 220 \mu\text{m}$) u grupi bolesnika sa preterminalnom bubrežnom insuficijencijom; $150 \mu\text{m}$ ($100 - 200 \mu\text{m}$) u grupi bolesnika na hroničnom programu hemodijalize; $700 \mu\text{m}$ ($460 - 1060 \mu\text{m}$) u grupi bolesnika na hroničnom programu peritoneumske dijalize. Pokazano je da se fibroza pogoršava tokom hroničnog programa PD i da najobimniju fibrozu imaju bolesnici lečeni peritoneumskim dijalizama duže od 8 godina. Fibroza je manje izražena u grupi bolesnika kod kojih su biopsije trbušne maramice uzete tokom transplantacije bubrega ili prilikom elektivnih hirurških intervencija ($180 \mu\text{m}$, od 100 do $270 \mu\text{m}$) u odnosu na bolesnike kod kojih je peritoneumski kateter evakuisan zbog problema vezanih za obavljanje dijalize ili zbog poremećaja ultrafiltracije ($650 \mu\text{m}$, od 400 do $1100 \mu\text{m}$) (40, 41).

1.5.4 Uticaj dijalizne tečnosti na angiogenezu u trbušnoj maramici

Neoangiogeneza je praćena dijabetiformnim reduplikacijama kapilarne bazalne membrane i subendotelnom hijalinozom, naročito u venulama. Promene se postepeno razvijaju i viđaju se posle 3 do 4 godine lečenja PD. U animalnim modelima, naročito kod pacova sa implantiranim peritoneumskim kateterom, izražena neoangiogeneza praćena fibrozom se razvija već posle 12 do 16 sedmica (21, 40, 54, 55).

Hronično stanje inflamacije niskog stepena, kao što je uremija, ponovljeni peritonitisi i izlaganje trbušne maramice visokim koncentracijama glukoze i raspadnih proizvoda glukoze u konvencionalnim rastvorima za peritoneumsku dijalizu povećavaju sintezu VEGF-a i FGF-a, i stvaranje reaktivnih karbonilnih jedinjenja (*reactive carbonil*

compounds, RCC) i krajnjih proizvoda glikolizacije belančevina (*advanced glycation end products*, AGE). Ovi medijatori uzrokuju neoangiogenezu i fibrogenezu. Tokom procesa sterilizacije konvencionalnih dijaliznih rastvora RCC se stvaraju iz GDP-a i prelaze u trbušnu duplju iz sistemske cirkulacije. Reaktivna karbonilna jedinjenja pospešuju stvaranje AGE, koji pokreću čitavu kaskadu ćelijskih efekata: stimulaciju monocita, sekreciju inflamatornih citokina, proliferaciju vaskularnih glatko-mišićnih ćelija, stimulaciju sekrecije faktora rasta i sinteza proteina ekstraćelijskog matriksa. Reaktivna karbonilna jedinjenja stimulišu ekspresiju VEGF-a na endotelnim i mezotelnim ćelijama. Azotni oksid (NO) i sintetaza endotelnog NO (*endothelial NO synthase*, eNOS) su istovremeno neophodni za angiogenezu uzrokovanu VEGF-om. Vaskularni endotelni faktor rasta indukuje sekreciju eNOS i NO, dok NO modulira i može da suprimira stimulaciju VEGF-a hipoksijom, negativnom povratnom spregom između NO i VEGF-a. Mnogobrojni su pro i antiangiogenetski faktori koji moduliraju rast endotelnih ćelija (Tabela 4) (54).

Tabela 4 - Faktori koji moduliraju proliferaciju endotelnih ćelija

proangiogenetski faktori	antiangiogenetski faktori
<ul style="list-style-type: none"> • vaskularni endotelni faktor rasta • bazični fibroblastni faktor • transformišući faktor rasta - β i α • faktor rasta indukovano hipoksijom • hepatocitni faktor rasta • prostaglandin E2 • endotelni faktor rasta poreklom iz trombocita • angiogenin • interleukin 8 • angiopoetin 	<ul style="list-style-type: none"> • angiostatin • endostatin • trombospondin 1 • inhibitor rasta vaskularnog endotela • kiseli, sekretovani protein bogat cisteinom

Neoangiogeneza se takođe objašnjava pseudohipoksijom. Tokom degradacije glukoze u ćelijama se glikolizom i polioljskim putem stvara NAD^+ , koji se regeneriše u ciklusu limunske kiseline i konverzijom piruvata u laktat pomoću laktat-dehidrogenaze. Visoka koncentracija laktata u konvencionalnim dijaliznim rastvorima uzrokuje povećanje intracelularne koncentracije laktata, koji inhibira regeneraciju NAD^+ i tako povećava intracelularni NADH/NAD^+ odnos. Ovo stanje imitira intracelularnu hipoksiju,

koja snažno stimulišu sintezu VEGF-a i sintezu faktora rasta 1 indukovano hipoksijom (*hypoxia inducible factor*, HIF-1), koji su najvažniji faktori angiogeneze (54, 39).

Zapaženo je da je i samo prisustvo katetera za peritoneumsku dijalizu snažni okidač neoangiogeneze i razvoja fibroze i da su ove promene manje izražene kod eksperimentalnih životinja bez stalnog katetera (56).

U dvanaestonedeljnoj studiji PD-a konvencionalni laktatni dijalizat, odnosno rastvor bez GDP-a, ubrizgavani su 2 puta dnevno u trbušnu duplju eksperimentalne životinje pojedinačnim punkcijama (2x10 ml rastvora). Životinje koje su izložene laktatnom rastvoru, bez obzira na sadržaj GDP-a, pokazivale su zadebljanje submezotelnog tkiva i neoangiogenezu u korelaciji sa povećanom ekspresijom mRNK za VEGF i Tgf- β . Posle 12 nedelja, ekspresija VEGF-a i Tgf- β su bile izraženije kod životinja tretiranih rastvorima bez GDP-a (21, 55).

1.5.5 Uloga glukoze i raspadnih proizvoda glukoze u oštećenju trbušne maramice

Dijabetiformna priroda promena trbušne maramice na hroničnom programu peritoneumske dijalize je sama po sebi dokaz etiopatogenetskog značaja visokih koncentracija glukoze u dijaliznoj tečnosti.

Visoke koncentracije glukoze aktiviraju protein kinazu C (*protein kinase C*, PKC) i nuklearni faktor-kappa beta (NF- $\kappa\beta$), uzročnik apoptoze. Glukoza inhibira proliferaciju humanih peritoneumskih mezotelnih ćelija i reverzibilnost promena zavisi od dužine izlaganja visokim koncentracijama glukoze (57). Visoke koncentracije glukoze stimulišu sintezu TGF- β i VEGF-a u humanim peritoneumskim mezotelnim ćelijama (58). Ključnu ulogu u razvoju hiperpermeabilnosti trbušne maramice ima VEGF. Primena monoklonskih anti-VEGF antitela smanjuje permeabilnost (59).

Hipertoni rastvori glukoze i visoke koncentracije GDP-a oštećuju trbušnu maramicu bolesnika na dugotrajnom programu peritoneumske dijalize. Dokazan je manji obim submezotelne skleroze i vaskularnih promena u uzorcima trbušne maramice bolesnika koji su imali niže dnevno opterećenje glukozom (60). Zapaženo je značajno ubrzanje transportnog stanja tokom 5 godina praćenja bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama koji su ranije gubili rezidualnu funkciju bubrega i bili izloženi značajno većem opterećenju glukozom tokom prve 2 godine lečenja. Dalja opterećenja glukozom bila su uslovljena smanjenjem ultrafiltracije usled ubrzavanja transportnog stanja (61).

Tokom procesa sterilizacije toplotom i tokom dugotrajnog lagerovanja dijalizata dolazi do stvaranja raznih proizvoda degradacije glukoze: glioksal, metilglioksal, 5-OH metilfuraldehid, acetaldehid, 2-furaldehid, 3-deoksiglukozon i 3,4-doksiglukozon-3-en (3,4-DGE). Oni su direktno citotoksični za humane peritoneumske mezotelne ćelije i pospešuju stvaranje krajnjih proizvoda glikolizacije belančevina (57, 58).

Da bi dokazali etiološku ulogu visokih koncentracija GDP-a u angiogenezi, eksperimentalni pacovi kojima je implantiran peritoneumski kateter, izlagani su konvencionalnom dijaliznom rastvoru sa 3,86% glukoze, puferovanom laktatom, pH 5, zatim dijaliznom rastvoru sa niskim sadržajem GDP (*Physioneal*[®]), puferovanom laktatom i bikarbonatom, neutralnog pH 7,4 i dijaliznom rastvoru sa aminokiselinama puferovanom laktatom do pH vrednosti 6,7 (*Nutrional*[®]). Tokom 12 sedmica ubrigavano je 2x10 ml rastvora dnevno. Obim ultrafiltracije se smanjio tokom 12 sedmica u grupi eksperimentalnih životinja izloženih konvencionalnom rastvoru, ali ne i kod životinja na biokompatibilnim ili aminokiselinskim rastvorima. Osim toga, kod pacova izloženih konvencionalnim rastvorima nađeni su: veća ekspresija VEGF-a, značajnija mikrovaskularna proliferacija i stepen fibroze submezotelnog tkiva, povećana ekspresija AGE i receptora za AGE (RAGE) (21).

Da bi se smanjila koncentracija laktata, na osnovu hipoteze pseudohipoksije, istraživači su u dugotrajnom eksperimentalnom modelu na pacovu primenili kombinacije dijalizata sa 1,4% glicerola, 0,5% aminokiselina i 1% dekstroze u rastvoru puferovanom laktatom/bikarbonatom ili piruvatom – *GLAD* studija. Dobili su rezultate koji obećavaju, smanjena je koncentracija GDP-a, neoangiogeneza i naročito submezotelna fibroza (62).

1.5.6 Uloga krajnjih proizvoda glikolizacije belančevina u oštećenju trbušne maramice

Glukoza i različita karbonilna jedinjenja vezuju se ne-enzimski za slobodne aminokiseline belančevina i lipida i ireverzibilno stvaraju krajnje proizvode glikolizacije belančevina (AGE) kroz seriju oksidativnih i neoksidativnih reakcija. Stvaranje AGE-a se odvija tokom fiziološkog starenja, a ubrzava se kod veće raspoloživosti supstrata i u uslovima izraženog oksidativnog stresa (16).

Na peritoneumskoj dijalizi trajno izlaganje visokim koncentracijama glukoze i izraženom oksidativnom stresu vodi stvaranju velikih količina AGE-a male molekulske težine, koji se metabolišu preko bubrega i čiji klirens opada gubitkom

rezidualne funkcije bubrega. Kliničke studije su dokazale velike koncentracije AGE-a u dijalizatu, a imunohistohemijska bojenja nakupljanje AGE-a u mezotelu, submezotelnom tkivu i u zidovima krvnih sudova bolesnika već posle 3 meseca od započinjanja hroničnog lečenja peritoneumskim dijalizama (16). Proces se nastavlja posle početne glikolizacije i u odsustvu substrata. Vezivanje AGE-a za receptore na različitim ćelijama (endotelne, glatkomišićne ćelije i ćelije zapaljenja) pospešuje dalje oksidativni stres. Sintezu VEGF-a stimuliše AGE, a VEGF se detektuje udružen sa pentosidinom i/ili karboksimelezinom na mezotelnim i endotelnim ćelijama trbušne maramice. Dokazana je korelacija između fibroze intersticijuma i vaskularne skleroze i akumulacije AGE-a u trbušnoj maramici. Akumulacija AGE-a u trbušnoj maramici u korelaciji je sa dužinom dijaliznog lečenja i sa ubrzavanjem transportnog statusa (63).

Interekcije AGE-a sa njihovim receptorima ispitivane su u streptozocin-indukovanom dijabetesu kod pacova. Monoklonska anti-RAGE antitela sprečavaju sintezu TGF- β , razvoj submezotelne fibroze i deponovanje fibronektina, ali ne i neoangiogenezu sa ubrzanjem transportnog statusa (59). Ispitivanja na modelu RAGE-deficijentnog miša su dokazala da oštećenje trbušne maramice zavisi od interekcije AGE-a sa njihovim receptorima (64). Dodavanje gvanidina u dijalizni rastvor inhibira AGE i smanjuje promene na nivou trbušne maramice (65).

1.5.7 Uloga laktata i kiselosti u oštećenju trbušne maramice

Visoki sadržaj laktata je neophodan za korekciju kiselosti konvencionalnih dijaliznih rastvora i za prevenciju karamelizacije glukoze tokom sterilizacije rastvora toplotom. Kiselost laktatnih dijaliznih rastvora menja funkcionalne karakteristike trbušne maramice i može da izazove bolove tokom ulivanja dijalizata. Humane peritoneumske mezotelne ćelije izložene laktatu, bilo čistom bilo sa dodatkom glukoze, povećavaju sintezu TGF- β 1 i monocitnog hemoatraktivnog proteina-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*, MCP-1) (66). Kombinacija niskog pH i laktata jako je toksična za humane peritoneumske mezotelne ćelije i druge ćelije zbog smanjenja intraćelijskog pH (39).

U eksperimentalnom modelu pokazano je da laktat nezavisno od kiselosti izaziva imunološku aktivaciju, neoangiogenezu, fibrozu, oštećenje mezotelnih ćelija trbušne maramice i da su sve ove promene izraženije kod kombinacije laktata sa glukozom i sa GDP-om (16). Takođe, dokazano je na eksperimentalnom modelu da kiseli dijalizni rastvori ubrzavaju absorpciju glukoze i smanjuju ultrafiltraciju (67, 68).

1.6 ULOGA BIOMARKERA TGF- β 1, VEGF-a I Ca125 U PROMENAMA TRBUŠNE MARAMICE NA PERITONEUMSKOJ DIJALIZI

1.6.1 Transformišući faktor rasta- β 1

Transformišući faktor rasta- β 1 je moćan citokin koji učestvuje u fiziološkim procesima rasta, diferencijacije i ekspresije gena (69). Luči se kao latentni inaktivni procitokin koji se aktivira ekstracelularno pre vezivanja za odgovarajuće receptore (70) i identifikovan je u 5 međusobno analognih izoformi. *Knocking-out* TGF- β 1 uzrokuje ozbiljnu generalizovanu auto-inflamatornu reakciju, razvoj anomalija, tumorogenezu, usporava zarastanje rana i vodi ranoj smrti. Povećanje aktivnosti TGF- β 1 ubrzava rast tumora, pospešuje procese fibroze u raznim organima i suprimira imuni sistem (71, 72, 73).

Transformišući faktor rasta- β 1 indukuje sintezu proteina vanćelijskog matriksa (kolagen i fibronektin) u velikom broju ćelija i ekspresiju molekula integrina koji omogućavaju adhezivne veze između ekstraćelijskog matriksa i ćelija. Ovaj citokin učestvuje u razgradnji proteina ekstraćelijskog matriksa i u složenim interakcijama sa plazminom, metaloproteinazama matriksa i njihovim inhibitorima (69, 70).

Mnogobrojni su podaci o specifičnoj ulozi TGF- β 1 u fibrozi peritoneuma. U kulturi mezotelnih ćelija luči se i pospešuje sintezu kolagena i fibronektina (45, 74), indukuje ekspresiju aktina α -glatkih mišićnih ćelija, što ukazuje na transformaciju ćelije ka fibroblastnom fenotipu (75). Visoke koncentracije glukoze povećavaju sintezu fibronektina i TGF- β 1 u kulturi peritoneumskih mezotelnih ćelija, a smanjuju sintezu perlekana. Monoklonska antitela protiv TGF- β 1 inhibiraju prekomernu sintezu fibronektina (9, 76, 77, 78).

Transfer gena u peritoneumske mezotelne ćelije pacova pospešuje sintezu TGF- β 1 i procese fibroze u trbušnoj maramici i uzrokuje poremećaj ultrafiltracije i neoangiogenezu zbog povećane sinteze VEGF-a (79). Inhibicija sinteze i dejstva TGF- β 1 dekorinom ili oktreotidom smanjuje fibrozu u eksperimentalnim modelima peritoneumske dijalize (10).

U izlivenom dijalizatu se detektuje TGF- β 1 i koncentracija se povećava tokom trajanja lečenja hroničnom peritoneumskom dijalizom, posle epizoda peritonitisa i kod bolesnika sa fibrozom trbušne maramice (80).

Transformišući faktor rasta- β 1 modulira funkciju peritoneumske

membrane i uticajem na proliferaciju mezotelnih ćelija, koje igraju važnu ulogu u fiziologiji membrane. Histološka analiza biopsiranih uzoraka trbušne maramice pokazuje progresivni gubitak mezotelnog pokrivača tokom dugotrajnog lečenja peritoneumskim dijalizama, a mnogobrojne mezotelne ćelije se odlepljuju tokom akutnog peritonitisa. U normalnim uslovima preostale mezotelne ćelije proliferišu i ponovo prekrivaju ogoljene površine trbušne maramice (71, 75). U kulturi mezotelnih ćelija peritoneuma proliferaciju mezotela značajno inhibišu TGF- β 1 i visoke koncentracije glukoze u dijalizatu, što verovatno kompromituje regeneraciju oštećenog mezotelnog pokrivača (70).

Blokada TGF- β 1 smanjuje sintezu proteina ekstraćelijskog matriksa i sprečava procese fibroze u eksperimentalnom modelima bubrežne slabosti. Mnogobrojni potencijalni inhibitori TGF- β 1 (dipiridamol, pentoksifilin, enalapril, emodin, trombospodin) su primenjivani u eksperimentalnim modelima, ali nema iskustava u kliničkoj praksi (70).

Dugotrajna inhibicija TGF- β 1 u kliničkim uslovima je rizična. TGF- β 1 je značajan modulator imunoloških funkcija i razvoja tumora, a posledice njegove dugotrajne supresije nisu poznate. Inhibicija bi trebalo da se specifično odnosi na ograničene regije (npr. trbušna maramica), ili specifične procese fibroze (73).

1.6.2 Faktor rasta vaskularnog endotela

Porodica vaskularnih endotelnih faktora rasta (VEGF) se sastoji od 5 različitih izoformi homodimernih angiogenetskih glikoproteina sa visokim afinitetom za heparin (81). Ovaj citokin, otkriven 1983. godine, nazvan je vazopermeabilnim faktorom zbog izraženog vazopermeabilnog dejstva na endotelne ćelije i predstavlja najmoćniji permeabilni faktor do sada identifikovan (82). Ostala biološki relevantna dejstva VEGF-a su: mitogeni uticaj na endotelne ćelije, vodeća uloga u procesima fiziološke i patološke angiogeneze, povećanje protoka krvi i vaskularne konduktance, modulacija kinetike leukocita. Hipoksija je najvažniji stimulus za VEGF i on je nazvan "faktor preživljavanja" u tkivnoj ishemiji. Dva najpoznatija receptora za VEGF (VEGFR-1 i VEGFR-2) su visoko-afinitetni transmembranski tirozin-kinazni receptori (*Flt-like tyrosine kinase*, Flt-1 i *fetal liver kinase*, Flk-1) (81).

U *in vitro* uslovima ćelije mezangijuma, endotelne glomerulske ćelije, glatke mišićne ćelije, epitel proksimalnih i distalnih tubula bubrega luče VEGF (83). U eksperimentalnim uslovima povećana bubrežna ekspresija VEGF-a je dokazana

u životinjskim modelima dijabetesa tipa I (streptozocin-indukovani dijabetes melitus) i dijabetesa tipa II (*Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats*, OLETF pacovi i *Zucker Diabetic Fatty rats*, ZDF pacovi) (84). U humanoj patologiji, podaci o etiopatogenetskoj ulozi VEGF-a u dijabetesu tipa I su kontroverzni, dok je u dijabetesu tip II koncentracija VEGF u plazmi u korelaciji sa stepenom dijabetesne nefropatije i sa obimom proteinurije (85).

Angiotenzin II stimuliše sintezu VEGF-a u ćelijama mezangijuma, dok sinteza VEGF-a u ćelijama endotela krvnih sudova zavisi od protein kinaze C. VEGF pospešuje ekspresiju endotelne sintetaze NO i indukuje sintezu NO u endotelnim ćelijama (86).

VEGF je patogenetski spoj između visoke koncentracije glukoze i mikrovaskularne hiperparemeabilnosti, odnosno neoangiogeneze. U *in vitro* uslovima visoke koncentracije glukoze indukuju ekspresiju VEGF-a u mnogim tipovima ćelija. Povećana ekspresija VEGF-a je dokazana u retini, bubrezima i nervnim vlaknima eksperimentalnih životinja i u humanoj patologiji. Ekspresija VEGF-a u peritoneumu je dokazana kod bolesnika tretiranih dijaliznim rastvorima sa visokom koncentracijom glukoze (16, 75, 78, 83, 87, 88).

Dokazana je uloga VEGF-a u funkcionalnim i strukturnim promenama mikrovaskulature trbušne maramice u eksperimentalnim modelima. Tehnike intravitalne mikroskopije su dokazale kod *Wistar* pacova sa dijabetes melitusom indukovanim streptozocinom mikrovaskularnu proliferaciju, ubrzanje transporta rastvorenih materija male molekulske težine i povećanje gubitka makromolekula. Takođe, dokazano je da primena specifičnih monoklonskih anti-VEGF antitela ublažava mikrovaskularne promene indukovane hiperglikemijom. Rezultati potvrđuju ulogu VEGF-a u patogenezi mikrovaskularne disfunkcije pod dejstvom visoke koncentracije glukoze (59).

1.6.3 Karcinomski antigen 125

Tokom 1981. godine, karcinomski ili karbohidratni antigen 125 (*cancer antigen 125*, Ca125) identifikovan je kao antitelo na antigen 125 ovarijalnog karcinoma OC125 i zlatni je standard u praćenju neoplazmi jajnika (89). Ca125 je jako veliki transmembranski protein koji se sastoji od mnogobrojnih ponovljenih domena (60+) i amino-terminalne sekvence (90, 91). Ekstraćelijski segment Ca125 je visoko glikoliziran.

Malo se zna o sintezi ove masivne proteinske strukture. Najskorije otkrivena sekvenca mRNK za Ca125 (AF414442) prevazilazi 66 kb i zahvata 84 eksona koji se prostiru na preko 130 kb genomskog DNK. Ova velika mRNK kodira proizvod koji se teorijski sastoji od 22152 aminokiseline, mada su mnogi segmenti kako nukleotida, tako i aminokiselinske sekvence i dalje nepoznati zbog ponavljanja sekvenci. Sekrecija molekula Ca125 se odvija zahvaljujući signalizaciji intracelularnog segmenta i cepanju ekstracelularnog segmenta u trenutku oslobađanja. Mesto cepanja, veličina oslobođenih fragmenata i enzimi koji učestvuju u lučenju nedovoljno su istraženi (91, 92).

Biološka uloga Ca125 nije jasna, mada činjenica da pripada porodici mucina (MUC) i da ga kodira MUCIN 16 gen ukazuje na ulogu lubrikacije.

Ca125 mRNK je izolovana iz humanih mezotelnih ćelija peritoneuma tehnikama amplifikacije DNK. Tokom 1995. godine primećeno je da bi Ca125 mogao da predstavlja marker očuvanosti mezotelne ćelijske mase u stabilnih bolesnika na hroničnom programu peritoneumske dijalize (93). Radovi su dokazali da leukociti ne luče Ca125 i ukazali su na pasivnu sintezu i na korelaciju sa brojem mezotelnih ćelija u kulturi tkiva, kao i da mezotelne ćelije *in vitro* ne sekretuju Ca125 kada su stimulisane proinflamatornim citokinima (94). Dokazana je korelacija između koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu i trajanja hroničnog programa PD i tako potkrepljena teorija o značaju Ca125 kao markera mase mezotelnih ćelija ili integriteta trbušne maramice u kliničkim uslovima (95).

Poslednjih godina, na korelaciju između nivoa Ca125 i bolje očuvanosti trbušne maramice ukazuju rezultati studija koje su pratile delovanje biokompatibilnosti dijaliznih rastvora u kratkim, srednjim i dugim periodima lečenja. Kontinuirano izlaganje bolesnika biokompatibilnijim rastvorima (rastvorima sa neutralnim pH ili sa sniženim koncentracijama GDP-a) dovelo je do značajnog povećanja koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu, što je tumačeno kao očuvanje mezotelne ćelijske mase i integriteta trbušne maramice (20, 96, 97).

Sinteza Ca125 u *in vitro* uslovima je 10 do 30 puta veća u odnosu na kliničke uslove (94, 95). Razlike upotrebljenih podloga (medijum za kulturu tkiva u odnosu na izliveni dijalizat) mogu da objasne razliku samo delimično, pa postoji jasna diskrepanca između čistih *in vitro* uslova i uremijske trbušne maramice izložene bioinkompatibilnim rastvorima na bazi glukoze i akutnoj ili hroničnoj inflamaciji (20, 96, 97).

1.7 EKSPERIMENTALNI MODELI PERITONEUMSKE DIJALIZE

Davne 1923. godine peritoneumska dijaliza je implementirana kao metoda lečenja hronične bubrežne slabosti na animalnom modelu psa (98).

Animalni modeli peritoneumske dijalize su korišćeni za razumevanje strukture i fiziologije trbušne maramice, samog dijaliznog procesa, patofiziologije razmene materija preko trbušne maramice, imunoloških procesa usled infekcija i dejstva dijaliznih rastvora, kao i za ispitivanje efekata novih dijaliznih rastvora, s obzirom da su ispitivanja u humanoj populaciji praćena brojnim tehničkim i etičkim problemima (99).

Kreirani su mnogobrojni eksperimentalni modeli PD (Tabela 5), što otežava interpretaciju i upoređivanje rezultata, te postoji potreba da se postigne konsenzus u primenjenoj metodologiji i pronade model koji adekvatno imitira dijalizni proces u humanoj populaciji (100, 101). Tokom 90-tih godina prošlog veka razvijeno je nekoliko različitih eksperimentalnih modela peritoneumske dijalize, koji su nazvani prema centrima gde su realizovani. Akutni ne-uremijski *Stockholm* model je jednostavan i jeftin model koji je omogućio ispitivanje fiziologije peritoneumskog transporta, ispitivanje uticaja dijaliznih rastvora i biokompatibilnosti. Hronični ne-uremijski *Amsterdam* model omogućio je ispitivanje kimokina, regeneracije mezotelnih ćelija *in vivo* i hroničnog peritonitisa. Hronični uremijski *Gent* model je kompleksniji i skuplji, ali je omogućio praćenje životinja duže od 8 sedmica (102).

Primenjuju se različite tehnike instilacije dijalizata u trbušnu duplju eksperimentalne životinje. Pojedini istraživači ubrizgavaju dijalizat ponovljenim slepim punkcijama, koje nose opasnost od infekcija, krvarenja i povrede unutrašnjih organa, a ne omogućavaju drenažu. Primena anestetika prilikom punkcije menja permeabilnost trbušne maramice, kinetiku peritoneumskog transporta i limfnu drenažu (98, 99).

Druga tehnika je implantacija trajnog katetera kroz potkožni tunel između vrata i peritoneumske duplje. Otvoreni trajni sistem podrazumeva instilaciju i drenažu dijalizata kroz cevčicu koja se ubaci u peritoneumski kateter. Moguće je pratiti životinje tokom više sedmica. Ova tehnika ne zahteva primenu anestetika. Rizik od razvoja infekcije i/ili opstrukcije katetera je visok i osipanje značajno, 10 do 60% u različitim studijama. U zatvorenom trajnom sistemu peritoneumski kateter je povezan sa malim potkožnim rezervoarom na vratu preko koga se ubrizgava dijalizat. Nije moguća drenaža dijalizata, koji se apsorbuje u peritoneumskoj duplji. Ovom metodom se smanjuje rizik od infekcije, ali ne i od opstrukcije katetera (98, 99).

Tabela 5 - Različiti eksperimentalni modeli peritoneumske dijalize - prednosti i mane

MODEL	PREDNOSTI	MANE
injekcija bez anestezije	jednostavan i jeftin, bez hirurške intervencije	nema drenaže, rizik od krvarenja i povrede intraperitonealnih organa, ponovljeni ubodi, unos infekcije
injekcija uz anesteziju	smanjen rizik infekcije i traume, moguće trajanje i do 20 sedmica	iste kao kod injekcija bez anestetika, može da utiče na permeabilnost membrane i metaboličko stanje
otvoreni sistem sa kateterom u permanentnoj cevčici za instilaciju dijalizata	laka instilacija i drenaža dijaliznog rastvora, bolja imitacija peritoneumske dijalize	dodatna manipulacija plasiranja katetera povećan rizik od infekcije zbog otvorenog sistema, visoki % infekcije i opstrukcije PK
otvoreni sistem upotrebom permanentne cevčice za instilaciju dijalizata	kao i kod prethodnog sistema, moguće trajanje modela i do 24 sedmica	povećan % infekcija zbog otvorenog sistema, visoka incidenca infekcije i opstrukcije PK
zatvoreni sistem - subkutani rezervoar na vratu povezan sa PK, bez mera održavanja	smanjeni rizik od infekcija u odnosu na otvoreni sistem	nema drenaže, skupi kateteri, manja, ali visoka incidenca infekcije i opstrukcije PK
zatvoren sistem - podkožni rezervoar na vratu povezan sa PK, heparinizacija dijaliznog rastvora	manja učestalost opstrukcije katetera i manje stvaranje priraslica	nema drenaže; pospešuje inflamaciju, proliferaciju ćelija, neoangiogenezu
zatvoreni sistem - subkutani rezervoar na vratu, povezan sa hepariniziranim PK	manja učestalost opstrukcije katetera, bez nuspojava zbog intraperitoneumske primene heparina	jako skupi kateteri
zatvoreni sistem - subkutani rezervoar na vratu povezan sa PK i profilaktična primena antibiotika	prevencija infekcije, dokazano da primena antibiotika ne utiče na strukturu i funkciju peritoneuma	opasnost od razvoja rezistentnih sojeva
uremija: 85% nefrektomija do 13 sedmica praćenja	teška insuficijencija bubrega ubrzava razvoj uremijskih promena na trbušnoj maramici	visok mortalitet u odnosu na manje obimne nefrektomije, ograničavanje perioda dijalize na oko 6 sedmica
uremija: 70% nefrektomija do 16 sedmica praćenja uz renoprotektivnu dijetu	bolje imitira HBI, trajanje dijalize i do 16 sedmica, značajan razvoj promena peritoneuma	niže stope komorbiditeta i mortaliteta

Legenda: PK = peritoneumski kateter; HBI = hronična bubrežna insuficijencija

1.7.1 Eksperimentalne životinje

Fiziologija trbušne maramice je ispitivana najčešće na sitnim sisarima - pacovi i zečevi, ali i na krupnijim životinjama, kao što su psi i ovce. Pacovi su jeftini i lako se gaje, ali kratkotrajno preživljavaju na PD, a dužina dijaliznog tretmana je ključna za razvoj histopatoloških promena trbušne maramice (98, 99). Prilikom interpretacije nalaza uzima se u obzir životni vek, koji kod pacova iznosi u proseku 2,5 godine, te se smatra da 16 do 20 sedmica dijaliznog tretmana odgovara petogodišnjem do desetogodišnjem periodu u humanoj patologiji. Frakcija trbušne maramice koja učestvuje u procesima razmene materija je kod pacova proporcionalno veća u odnosu na čoveka. Implantacija peritoneumskog katetera (PK) je tehnički otežana zbog veličine životinja, a instilacija dijalizata ponovljenim punkcijama je rizična (98, 99). Zečevi omogućavaju dugotrajniju primenu dijalize, otporniji su na infekcije i odnos površine trbušne maramice i volumena izmene je sličan kao u humanoj populaciji. Međutim, zečevi su osetljivije životinje (103, 104, 105, 106).

U skorije vreme, upotrebom genetski modifikovanih životinja i tehnika genetskog transfera, mehanizmi oštećenja trbušne maramice ispituju se u *in vivo* uslovima (79, 80).

Genetski modifikovani miševi se koriste za proučavanje uloge pojedinačnih belančevina tokom izmene. Na primer, značaj akvaporina-1 u transportu vode i natrijuma je proučavan u akvaporin-1 deficijntnim miševima tokom izmene sa hiperosmolarnim dijalizatom (107). Kaveolin-1 deficijntni miševi nemaju vaskularne kaveole i korišćeni su u izučavanju mehanizama makromolekularnog transporta (108).

1.7.2 Volumen i učestalost instilacija

Telesna masa pacova iznosi oko 350 g a površina trbušne maramice oko 600 cm², te bi 70 ml dijalizata odgovaralo volumenu dijalizne izmene u humanoj populaciji. Međutim, uobičajeno se ubrizgava 30 do 40 ml dijalizata, da bi se izbegle respiratorne komplikacije i curenja dijalizne tečnosti. Kod miševa se primenjuje oko 10 ml dijalizata. Kod zečeva se ubrizgava oko 40 ml/kg telesne mase, što je proporcionalno volumenu koji se primenjuje u ljudskoj populaciji (105). Učestalost instilacija se kreće od jednom do tri puta dnevno. Ponovljene instilacije odgovaraju ponovljenim izmenama na hroničnom programu peritoneumske dijalize (98, 99, 103, 105).

1.7.3 Dužina trajanja peritoneumske dijalize

Ne postoji konsenzus oko optimalne dužine trajanja PD u eksperimentalnim modelima za razvoj specifičnih promena trbušne maramice. Posle plasiranja PK, nespecifična inflamatorna reakcija se razvija tokom 3 sedmice. Smatra se da je minimalni period od 12 sedmica potreban za razvoj histofizioloških promena pod uticajem različitih dijaliznih tečnosti na trbušnu maramicu (98).

1.7.4 Komplikacije peritoneumske dijalize

Najčešće komplikacije u svim eksperimentalnim modelima PD su opstrukcija peritoneumskog katetera (PK) i peritonitis (98, 99).

Inflamacija i imunološki procesi tokom peritonitisa, koji predstavlja jednu od najvažnijih komplikacija dugotrajne peritoneumske dijalize, detaljno se proučavaju na životinjskim modelima (98). Peritonitis se leči primenom antibiotika (99, 109).

Najčešće korišćene mere prevencije opstrukcije katetera su omentektomija i heparinizacija PK. Omentektomija pre implantacije katetera se radi da bi se izbegla mehanička opstrukcija PK. Omentum, i naročito bele mrlje su značajan izvor mezotelnih ćelija i makrofaga, te omentektomija smanjuje antibakterijske odbrambene sposobnosti (98, 99).

Heparin se dodaje dijaliznom rastvoru da bi se smanjilo stvaranja adhezija, ali poznato je da on modulira aktivnost inflamatornih ćelija omentuma, sintezu ekstraćelijskog matriksa, proliferaciju ćelija i angiogenezu. Savetuje se upotreba katetera sa hepariniziranim zidovima u cilju smanjenja opasnosti od opstrukcije PK bez uticaja na trbušnu maramicu (110, 111).

1.7.5 Biopsije trbušne maramice i analiza tkiva

Biopsija tkiva trbušne maramice je kompleksna kod svake vrste eksperimentalne životinje, s obzirom da se radi o jako osetljivom tkivu koje se brzo suši prilikom izlaganja vazduhu i koje se ultrastrukturalno menja i na lak dodir. Intraperitoneumska primena anestetika takođe uzrokuje ultrastrukturalne promene.

Odsustvo konsenzusa oko tačnog mesta za uzimanje biopsija utiče na varijabilnost rezultata. Većina istraživača uzima uzorke za histološku analizu sa

visceralnog peritoneuma, gde su najizraženije promene kod eksperimentalnih životinja (100, 21, 112, 113), za razliku od humane populacije, gde su najizraženije promene u parijetalnom peritoneumu (40, 41).

Semikvantitativne analize uzoraka peritoneumske membrane se primenjuju u ispitivanju biokompatibilnosti dijaliznih rastvora, mada su ove metode subjektivne (114). Semiautomatski sistemi histomorfometrije omogućavaju tačna merenja histoloških elemenata peritoneuma na fotografijama slikanim digitalnim aparatom koji je povezan sa svetlosnim mikroskopom. Ova metoda može da kvantifikuje procenat različitih vrsta mezotelnih ćelija, da proceni submezotelni edem i debljinu zida krvnih sudova (40, 115).

1.7.5.1 Intravitalna mikroskopija

Intravitalna mikroskopija je sofisticirana tehnika za evaluaciju strukture i funkcije živog tkiva i omogućava in vivo merenje protoka krvi kroz peritoneum, mikrovaskularne permeabilnosti za makromolekule, leukocitno-endotelijalne interakcije, gustine krvnih sudova i kinetike limfnih sudova. Ova tehnika omogućava da se peritoneum anestetizirane životinje hirurški preparira i poveže sa meračem, koji procenjuje obim transporta kroz peritoneumsku membranu zahvaljujući standardizovanim tečnostima i markerima volumena (98, 99).

1.7.6 Ispitivanje transportnih karakteristika peritoneuma

Klasični akutni animalni model PD podrazumeva anestetiziranje životinje, plasiranje katetera i ubrizgavanje dijalizne tečnosti u trbušnu duplju (116). Dodaje se radio-obeleženi albumin kao marker volumena. Uzorci se uzimaju tokom peritoneumske izmene. Moguće je izmeriti intraperitoneumski volumen, transkapilarnu ultrafiltraciju i transport rastvorenih materija preko trbušne maramice, i proceniti odnos koncentracije rastvorenih materija u dijalizatu i plazmi i koeficijent masenog transporta u odnosu na površinu (*mass transfer area*, MTAC) (117). Ovi podaci omogućuju procenu površine trbušne maramice. Permeabilnost same trbušne maramice karakteriše koeficijent restrikcije određene rastvorene materije, koji je u korelaciji sa slobodnom difuzijom rastvorenih materija. Veći koeficijent restrikcije ukazuje na permeabilnost vezanu za veću molekule, kao što su albumin i IgG (118).

Transportne karakteristike peritoneumske membrane delimično se razlikuju kod različitih eksperimentalnih životinja i u odnosu na humanu populaciju. Npr. kod

zeca je zapažen veći obim resorpcije preko limfnih sudova i veći klirens makromolekula (7); peritoneumska membrana pacova brže transportuje glukozu (119); peritoneumska membrana miševa manje propušta makromolekule u odnosu na humanu populaciju (120). Pacovi imaju visoku intraperitoneumsku koncentraciju amilaze i brzo metabolišu ikodekstrin. Visoke serumske koncentracije amilaza nađene su i kod drugih glodara. Studija koja je upoređivala odgovor na akutno ulivanje dijalizata dokazala je slične transportne karakteristike u miša i u pacova (119). Poređenjem mužjaka i ženki pacova nađeno je da C57B1/6 ženke imaju niži *sieving* natrijuma nego mužjaci, moguće zbog smanjene ekspresije akvaporina-1 (121). Takođe je dokazano akutno vazodilatatorno dejstvo dijalizata i ubrzavanje transporta rastvorenih materija u ranoj fazi izmene (121).

U tumačenju transportnih karakteristika peritoneuma, eksperimentalni protokol mora biti jasno definisan zato što male izmene, vrsta anestezije (121), ili primena lekova kao što je heparin (111) mogu da utiču na obim transporta rastvorenih materija.

1.7.7 Anatomsko/patofiziološka ispitivanja peritoneumske membrane korišćenjem akutnih modela peritoneumske dijalize

Akutni eksperimentalni model pojedinačne peritoneumske izmene pružio je mnogobrojna saznanja o peritoneumskoj membrani. Proučavane su razlike limfne drenaže i transporta materija između visceralnog, parijetalnog i subdijafragmalnog segmenta trbušne maramice. Parijetalni peritoneum je najvažnija komponenta za transport rastvorenih materija (122). Limfna drenaža kroz dijafragmalni segment je najvažniji put resorpcije makromolekula u pacova (123) i u ovce (124).

Dodirna površina između dijalizata i trbušne maramice je ispitivana u različitim studijama. Primenom magnetne rezonance dokazano je da je samo 30-40% trbušne maramice pacova u kontaktu sa dijalizatom tokom standardne izmene (125). Radio-obeleživačima i autoradiografijom utvrđeno je da je oko 40% površine trbušne maramice miša u kontaktu sa dijalizatom prilikom ubrizgavanja 10 ml rastvora (126). Povećanjem obima transporta razvijene su tehnike povećanja kontaktne površine između dijalizne tečnosti i peritoneumske membrane (127).

Obim transporta rastvorenih materija je u korelaciji sa vaskularnom površinom peritoneuma, a zavisi i od peritoneumskog protoka krvi. Promet rastvorenih materija kod pacova tokom akutne peritoneumske izmene se smanjuje posle smanjenja obima krvnog protoka usled uklanjanja jednog ukupnog volumena krvi (128).

Međutim, primenom tehnika intravitalne mikroskopije pokazano je da pri smanjenju protoka krvi do 70% nema promene obima transporta materija, čime je zaključeno da je protok krvi od manjeg značaja za klirens molekula (128). Takođe, primenom tehnika intravitalne mikroskopije dokazani su značajna vazodilatacija mezenteričnih arterija i ubrzanje cirkulacije kroz arteriole prilikom akutne primene dijalizata sa koncentracijom glukoze 1,5 do 4,25%, kao i primene acetilholina, nitroglicerina, verapamila i papaverina (129).

1.7.8 Uremični model peritoneumske dijalize

Ekperimentalni model parcijalne nefrektomije koristi se kao model za ispitivanje promena trbušne maramice u uremiji (130). Nivo uremije i trajanje bubrežne insuficijencije koreliraju sa obimom patoloških promena trbušne maramice. 70 do 85% nefrektomija uzrokuje porast azotemije 2 do 4 puta kod pacova (131). U radikalno nefrektomisanih pacova na režimu PD histološke promene trbušne maramice su dokazane već posle 4 dana (98). Neovaskularizacija se razvija kod uremičnih životinja tretiranih peritoneumskom dijalizom tokom 6 sedmica (131). Proučavano je sadejstvo uremije i AGE i ispitivan zaštitni efekat blokade receptora AGE monoklonskim antitelima na razvoj uremijskih promena na trbušnoj maramici (132, 133).

1.7.9 Ekperimentalni modeli dijabetes melitusa

Mikrostrukturne promene trbušne maramice na PD slične su promenama u šećernoj bolesti (neoangiogeneza, zadebljanje ekstracelularnog matriksa i duplikacije bazalnih membrana) i smatra se da nastaju kao posledica izlaganja trbušne maramice visokim koncentracijama glukoze dijalizne tečnosti. Stoga su korišćeni modeli ekperimentalnog dijabetesa u cilju proučavanja promena na nivou trbušne maramice.

Originalni ekperimentalni model je model šećerne bolesti indukovane streptozacinom (133). Četiri do 6 sedmica posle indukcije šećerne bolesti kod pacova se, u uzorcima trbušne maramice, registruje ubrzanje transportnog statusa, neoangiogeneza, povećana ekspresija NOS i AGE. Primena monoklonskih antitela na ovom ekperimentalnom modelu je kasnije dokazala patogenetsku ulogu VEGF-a (59) i receptora za AGE (134).

1.7.10 Angiogeneza u eksperimentalnim modelima

Različiti eksperimentalni modeli su korišćeni za proučavanje angiogeneze tokom dugotrajne PD. Analizirani uzorci submezotelijalnog ili omentalnog tkiva bojeni su imunohistohemijski na von *Willenbrand*-ov faktor, CD31 ili α -aktin glatkog mišića (132, 133). Bojeni uzorci su analizirani klasičnim brojanjem, ili na kompjuterskim modelima. Krvni sudovi su vizualizovani intravitalnom mikroskopijom, ili se procenjuje vaskularna permeabilnost za makromolekule (133). Ekspresija angiogenetskih faktora VEGF i NOS se ispituje *Western Blot* tehnikama (59), merenjem koncentracija faktora rasta u izlivenom dijalizatu (98) ili kvantitativnom imunohistohemijom (98, 134). Ekspresija gena verifikovana je detekcijom mRNK ili PCR metodama. Matične ćelije su identifikovane pomoću površinskih markera kao što je CD34 (98).

1.7.11 Fibroza u eksperimentalnim modelima

Zadebljanje submezotelnog matriksa ili fibroza je često prisutna na biopsijama peritoneuma u eksperimentalnim uslovima i, pored angiogeneze, predstavlja etiološki faktor razvoja funkcionalnih poremećaja ove membrane. Karakteristika fibroze je akumulacija ekstraćelijskog matriksa. Evaluacija fibroze vrši se testovima na hidroksiprolin (sastojak kolagena), *Western Blot* tehnikama za kolagen, kvantitativnom mikroskopijom isečaka obojenih na pikrorius crveno ili imunohistohemijskom detekcijom kolagena ili drugih komponentni ekstraćelijskog matriksa (80, 135). Debljina submezotelnog tkiva se koristi kao parametar za procenu fibroze (114).

Različite fibrogene molekule, kao AGE, TGF i *heat shock* proteini, ispitivane su imunohistohemijskim metodama, PCR ili *Western Blot* metodama. Metaloproteinaze matriksa i njihovi inhibitori ispitivani su PCR metodama ili zimografijom (131).

Epitelno-mezenhimalna tranzicija kao važan proces u fibrogenezi se u poslednje vreme ispituje različitim tehnikama u eksperimentalnim modelima (44, 45, 46).

2

CILJEVI RADA

Ciljevi naše eksperimentalne studije su bili:

1. ispitavanje mogućnosti uvođenja novog, modifikovanog eksperimentalnog hroničnog infuzionog ne-uremijskog modela PD, koji bi bio praktičan, jednostavan, jeftin;
2. istraživanje dugotrajnih efekata dijalizata na morfološke karakteristike tkiva peritoneuma;
3. analiza elemenata tkiva peritoneuma eksperimentalnih životinja optičkom i elektronskom mikroskopijom pre i posle izlaganja dijaliznim rastvorima
4. morfometrijska analiza krvnih sudova peritoneuma eksperimentalnih životinja pre i posle izlaganja dijaliznim rastvorima

Ciljevi naše kliničke studije su bili:

1. ispitivanje uticaja različitih rastvora za peritoneumsku dijalizu na transportni status i na kvalitet dijalize tokom lečenja bolesnika na hroničnom programu peritoneumske dijalize;
2. ispitivanje koncentracije faktora rasta vaskularnog endotela, transformišućeg faktora rasta 1 u izlivenom dijalizatu i u serumu tokom lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize;
3. ispitivanje koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu tokom prvih 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize;
4. analiza ishoda bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću koji su lečeni hroničnim programom peritoneumske dijalize.

3

MATERIJAL I METODE

3.1 EKSPERIMENTALNA STUDIJA

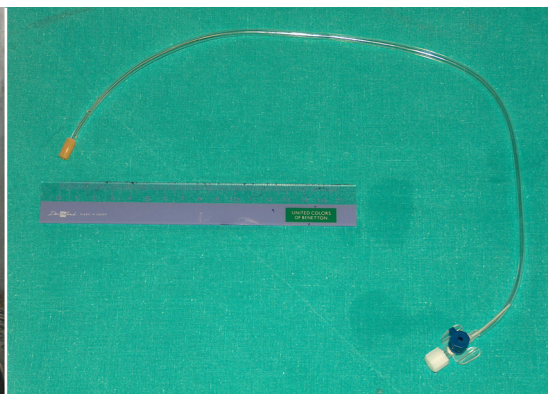
3.1.1 Eksperimentalne životinje

Istraživanje je sprovedeno na sedamnaest zdravih zečeva Činčila (*Chinchilla*) rase, oba pola, telesne mase 2739 ± 388 g na početku eksperimenta (Slika 1). Istraživanje je rađeno na Institutu za Patološku fiziologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu tokom 2008. godine.

Zečevi su čuvani u pojedinačnim kavezima, u prostorijama sa sobnom temperaturom i dvanaestočasovnim smenjivanjem perioda dan/noć. Hranjeni su standardnom briketiranom hranom za zečeve (Veterinarski zavod, Subotica, Srbija) i vodom *ad libitum*. Svakodnevno su čišćeni kavezi, dodavana hrana i menjana voda. Svi zečevi su aklimatizovani na uslove smeštaja pet dana pre implantacije katetera za PD. Jedanaest zečeva (6 mužjaka i 5 ženki) je praćeno tokom celog eksperimentalnog perioda od pet nedelja (sedam dana oporavka posle hirurške implantacije katetera i dvadeset osam dana instilacije dijaliznih rastvora).



Slika 1 – Eksperimentalna životinja



Slika 2 - Kateter za peritoneumsku dijalizu

U toku petonedeljnog perioda eksperimenta vođen je dnevnik promena za svaku životinju posebno. Svakodnevno su merene i beležene telesna masa i temperatura, registrovan je unos hrane i vode, diureza, defekacija, davanje antibiotika i eventualne druge intervencije (previjanje rana, ponovno ušivanje rana, zamena braunila i sl.).

Ekperimentalne procedure su obavljene na Institutu za Patološku fiziologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Svi eksperimentalni postupci su izvedeni u skladu sa *European Council Directive* (86/609/EC) i uz saglasnost Komisije za brigu o životinjama Univerziteta u Beogradu.

U našem radu korišćen je hronični ne-uremijski instilacioni eksperimentalni model peritoneumske dijalize.

3.1.1.1 Anestezija

Za operaciju implantacije katetera na početku eksperimentalnog perioda i vađenja katetera na kraju eksperimentalnog perioda, zečevi su anestetizirani prema postojećem protokolu koji je adaptiran za ovu studiju. U početku eksperimenta, kroz ušnu venu intravenski je davan *Tiopental BP 1G[®]* (*Rotexmedica, Trittau, Nemačka*), u dozi od 1 ml/kg telesne mase. Posle gubitka dve životinje ovim protokolom, preostale životinje su anestetizirane istim anestetikom (*Thiopental injection BP 1G[®]*), istim putem primene (ušna vena), ali je doza smanjena na 0,5 mg/kg. Ova doza anestetika je bila dovoljna za implantaciju i za evakuaciju katetera, a nije bilo neželjenih efekata.

3.1.1.2 Hirurške procedure

Kao kateter za peritoneumsku dijalizu na početku eksperimentalne studije koristili smo dvolumenski centralni venski kateter (*Arrow International Inc. USA Product No.CV-17702-E*). Dvolumenski centralni venski kateter plasiran je kod 4 životinje. Međutim, tokom prvih postoperativnih dana, zečevi su izgrizli spoljne krakove katetera i čak izvukli čitav kateter i pored toga što su oba kraka bili fiksirani za kožu. Kraci katetera su se pružali preko ušiju zečeva zbog svoje dužine, iritirali su ih i zečevi su ih lako hvatali. Ovi kateteri nisu mogli da se skrate usled prisustva originalnih nastavaka za uključenje infuzionih sistema na njihovim krajevima. Tokom dalje eksperimentalne studije koristili smo kao kateter za peritoneumsku dijalizu deo infuzionog sistema *Tro-soluset[®]* (*Troge Medical GMBH, Hamburg, Nemačka*), prvobitno skraćen na 45 cm (Slika 2).

Posle uvođenja u anesteziju (Slika 3), životinja je obrijana u predelu *regio nuchae* i predelu ispod levog rebarnog luka (levi gornji hemiabdomen). Hirurško polje je pripremljeno na standardni način. Zatim je skalpelom napravljena longitudinalna incizija dužine 3 – 4 cm, počev od 2 – 3 cm ispod kraja levog rebarnog luka i 4 – 5 cm od srednje trbušne linije, paralelno sa njom (Slika 4). Posle prosecanja kože preparisano je potkožno tkivo, delimično oštro, delimično tupo. Neposredno po prosecanju parijetalnog peritoneuma i otvaranju peritoneumske šupljine uzimane su biopsije tkiva peritoneuma sa dijagonalnih krajeva (Slika 5) i uzeti uzorci su fiksirani radi daljih

histoloških analiza (Slika 6). Tunel od abdominalnog do predela vrata napravljen je pomoću mandrena No 16 torakalnog drena rotirajućim i pokretima unapred (Slika 7). Izlazno mesto mandrena bilo je u predelu *regio nuchae*. Infuzioni kateter je potom navučen na mandren, fiksiran i provučen do abdominalnog otvora kroz prethodno napravljeni tunel. Peritoneumski kateter prethodno skraćen prema veličini životinje (Slika 8), plasiran je na dno peritoneumske duplje (Slika 9).

Da bi se sprečila ozleda abdominalnih organa, apikalni deo katetera koji je bio oštro odsečen zaštićen je u dužini od 1 cm mekom gumom sa infuzionog seta. Zatim su, neposredno iznad gumene kapice, hirurškim makazama na kateteru napravljena naizmenično četiri otvora promera 2 -3 mm (Slika 2).

Po plasiranju katetera peritoneum je zašiven produžnim šavom pomoću *Vicril*[®] 4-0. Deo katetera je šavovima pričvršćen za peritoneum. Zatim su zašiveni abdominalni mišići *Cutgut*[®] 3-0, a onda su ušivene fascije produžnim šavom uz upotrebu *Vicril*[®] (*Dexon*) 3-0 (Slika 10).

Konačno je koža zašivena pojedinačnim šavovima, a kateter fiksiran šavovima za kožu (Slika 10).

Sterilna gaza je stavljena preko obe rane i fiksirana flasterom kružno oko vrata i abdomena životinje.

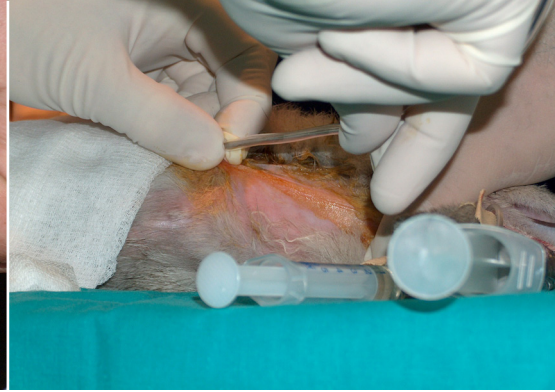
Izlazni, vratni deo katetera je u našem modelu adaptiran stavljanjem braunile (Slika 11), kroz koju su ubrizgavani dijalizni rastvori, heparin i antibiotici (Slika 12).

Za operaciju vađenja katetera napravljena je nova incizija dužine 2-3 cm na abdominalnom delu, ispred prethodne. Ovo mesto je izabrano zbog postojećeg ožiljka, da bi se uzorci tkiva peritoneuma uzeli sa dela koji nije mehanički oštećen prethodnom procedurom. Korišćen je isti pristup peritoneumu kao i pri operaciji implantacije katetera. Uzeti su uzorci tkiva za histološke analize. Identifikovan je kateter. Kod dva zeca kateter je prvo morao pažljivo da se oslobodi omentuma koji je bio obmotan oko katetera. Gumeni vrh katetera je odsečen i kateter je izvučen kroz tunel do izlaznog dela na vratu životinje. Abdominalna rana je zatim zatvorena kao što je prethodno opisano.

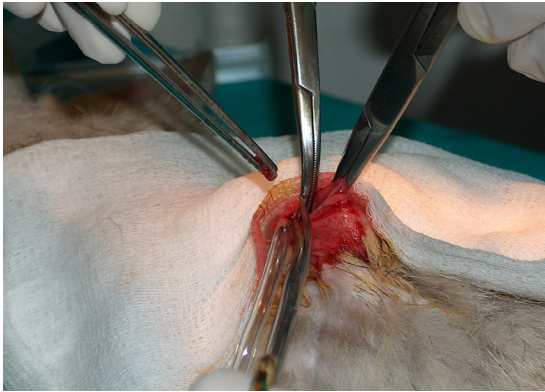
Za obe hirurške intervencije, plasiranja i vađenja katetera, zečevima je ukidana hrana i voda 24 sata pre planirane operacije i zatim ponovo uvedena 24 sata po završenoj intervenciji.



Slika 3 – Primena anestezije



Slika 4 – Incizija



Slika 5 – Uzimanje uzorka peritoneuma



Slika 6 – Uzorak peritoneuma



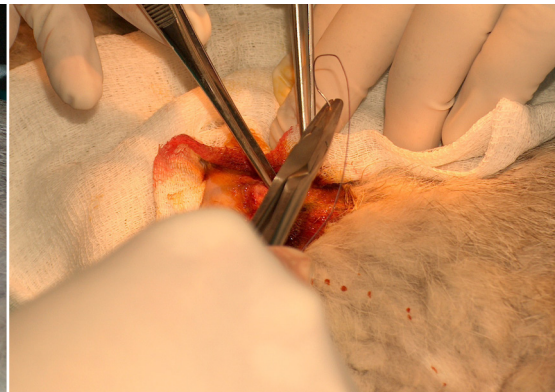
Slika 7 – Tunelizacija



Slika 8 – Priprema PK



Slika 9 – Provlačenje katetera kroz tunel



Slika 10 – Rekonstrukcija rane



Slika 11 – Izlazni deo PK



Slika 12 – Instilacija rastvora

3.1.1.3 Prevencija infekcije

Prevencija infekcije vršena je svakodnevnim davanjem injekcija cefuroksima (*Nilacef*[®], *Hemofarm* & *GlaxoSmithKline*, Engleska). Tri dana pre implantacije katetera i tri dana posle vađenja katetera ovaj antibiotik je davan intramuskularno dva puta dnevno, u ukupnoj dnevnoj dozi od 150 mg. U toku četvoronedeljnog perioda instilacija rastvora za peritoneumsku dijalizu cefuroksim je davan intraperitoneumski kroz plasirani kateter, jednom dnevno, u dozi od 75 mg. U slučaju sumnje na infekciju, davan je terapijski gentamicin (*Gentamicin*[®], Zdravlje, Leskovac, Srbija) u dozi od 2 mg intramuskularno dnevno.

3.1.1.4 Instilacija dijalizata

Posle sedam dana oporavka od implantacije katetera za peritoneumsku dijalizu, životinjama je svakog dana jednom dnevno instiliran rastvor za dijalizu. Korišćen je rastvor *Dianeal PD4 Glucose*[®] (*Baxter Vertriebs GmbH*, Beč, Austrija) sa 3,86% glukoze, koji je prethodno zagrejan na 37°C. Da bi se životinje adaptirale na instilacije dijalizata i da bi se izbegli respiratorni problemi viđeni na početku eksperimentalnog protokola, započinjano je sa davanjem 60 ml dijalizata. Zatim je doza povećavana po 10 ml dnevno, do ukupne doze od 40 ml/kg telesne mase. Ukupan period instilacije dijalizata bio je 28 dana.

3.1.1.5 Heparinizacija katetera

Da bi se sprečilo zupšavanje katetera sprovedena je svakodnevna heparinizacija katetera, koja je započeta neposredno posle ugradnje katetera i trajala je do kraja eksperimentalnog perioda. Korišćene su injekcije sa 10 i.j. heparin sodijuma (*Heparin*[®], Galenika a.d, Beograd, Srbija).

3.1.1.6 Uzimanje uzorka trbušne maramice za histološku analizu

Uzimanje uzoraka peritoneuma za histološke analize pažljivo je planirano i izvedeno zbog izrazite osetljivosti peritoneuma na mehaničku iritaciju i druge faktore spoljne sredine. Zbog toga je strogo poštovano pravilo da se uzorak uzima neposredno po otvaranju prednjeg trbušnog zida.

Uzimani su uzorci elipsoidnog oblika, dimenzija 18 mm x 3 mm. Pošto je poznato da su promene na tkivu difuzne, odnosno identične na čitavoj trbušnoj maramici, mesto izbora za uzimanje uzoraka radi ispitivanja reakcije peritoneuma na PD bio je parijetalni peritoneum uz prednji trbušni zid. S obzirom da je peritoneum uz prednji trbušni zid najlakše dostupan, a radi dobijanja validnih rezultata, svim eksperimentalnim zivotinjama su uzimani i upoređivani uzorci sa ovog dela trbušne maramice, uz nastojanje da mesto reza bude približno isto. Posle perioda instilacije dijaliznog rastvora, pri vađenju katetera, poštovano je pravilo da se uzorak uzima što dalje od ulaznog mesta peritoneumskog katetera.

Uzeti uzorci trbušne maramice su stavljeni odmah u fiksativ. Uzorci su fiksirani tokom 24 časa u 10% formaldehidu u 0.1M Sorensenovom fosfatnom puferu pH 7,4. Posle toga, tkivo je dehidrirano u 96% rastvoru etanola, a zatim tretirano klasičnom procedurom za dobijanje kalupa u paraplustu. Isečci su rutinski bojeni toluidinom (*Toluidin blue*), hematoksilinom i eozinom i posmatrani pod svetlosnim mikroskopom *Opton Photomikroskop III* (136, 137).

3.1.1.7 Priprema tkiva za elektronsku mikroskopiju

Uzorci tkiva trbušne maramice za posmatranje pod transmisionim elektronskim mikroskopom fiksirani su u 4% glutaraldehidu. Kada je radi bolje fiksacije membranskih struktura ovom fiksativu dodavana taninska kiselina do 1% koncentracije, fiksativ je pripreman neposredno pre upotrebe, a uzorak je u njemu stajao 24 časa. Bez taninske kiseline fiksiranje je trajalo od 24 časa do nekoliko dana. Fiksativi su rastvarani u kakodilatnom ili Sorensenovom fosfatnom puferu koncentracije 0.1 M, pH vrednosti 7,4. Tkivo je posle toga ispirano puferom u kome je rastvoren fiksativ (3 izmene po najmanje 10 minuta), a zatim kakodilatnim puferom (3 izmene po 10 minuta), pa postfiksirano 1% osmijum tetroksidom u 0.1M kakodilatnom puferu, pH 7,4, tokom jednog sata i ostavljano preko noći u 4% rastvoru uranil acetata. Dalji postupak je podrazumevao dehidraciju etanolom i propilen oksidom i kalupljenje u Eponu. Polutanki isečci bojeni su toluidinom (*Toluidin blue*), a tanki kontrastirani uranil acetatom i olovo citratom (138). Tanki isečci su analizirani na transmisionom elektronskom mikroskopu *EM PHILIPS M 208 S*.

Morfometrijska analiza karakteristika krvnih sudova trbušne maramice obavljena je primenom *SIS 3.1. (Soft Imaging System GmbH)*, merenjem histoloških struktura projektivanih sa *Opton Photomicroscope III* na ekran kompjutera preko digitalnog fotoaparata (*Olympus C3030*). Ispitivani su sledeći parametri krvnih sudova: spoljna i luminalna transverzalna površina, spoljni i luminalni dijametar, debljina zida, površina peritoneuma prekrivena krvnim sudovima (u %) i gustina krvnih sudova (broj krvnih sudova/ μm^2). Uzimani su u obzir samo krvni sudovi u celini prisutni u tkivu (139, 140).

Patohistološka analiza biopsiranih uzoraka urađena je na Institutu za Histologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu tokom 2009-2010. godine.

3.2 KLINIČKA STUDIJA

3.2.1 Bolesnici

Klinička studija je rađena na Klinici za nefrologiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu, u periodu od 2008. do 2012. godine.

Prvi deo studije ubuhvatio je 63 prevalentna bolesnika, 39 muškaraca i 24 žene, prosečne starosti $61,97 \pm 11,01$ godina, koji su zbog terminalne bubrežne slabosti lečeni hroničnim programom peritoneumske dijalize. Prosečna dužina dijaliznog programa u ovoj grupi je bila 24 ± 18 meseci. Ispitivani bolesnici nisu imali peritonitis, niti kliničke i laboratorijske znake drugih infekcija tokom prethodne 4 nedelje.

Osnovna bubrežna bolest prevalentnih ispitanika na lečenju peritoneumskom dijalizom bila je: insulin-zavisni dijabetes melitus kod 15 bolesnika; insulin-nezavisni dijabetes melitus kod 11 bolesnika; sistemska bolest patohistološki dokazana kod 2 bolesnice; fokalno-segmentna glomeruloskleroza patohistološki dokazana kod 1 bolesnika; glomerulonefritis koji nije patohistološki potvrđen kod 2 bolesnika; policistična degeneracija bubrega kod 4 bolesnika; endemska nefropatija kod 1 bolesnika; nefroangioskleroza usled dugogodišnje hipertenzije kod 4 bolesnika; hronični pijelonefritis kod 2 bolesnice; hronična nefropatija nepoznatog uzroka kod 21 bolesnika.

U grupi prevalentnih bolesnika određivani su u krvi: hemoglobin, hematokrit, feremija, feritin, saturacija gvožđa, ukupni kapacitet vezivanja gvožđa, glukoza, urea, kreatinin, ukupna proteinemija, albuminemija, holesterol, trigliceridi, elektroliti u serumu, parathormon, fibrinogen, C-reaktivni protein, koncentracija

VEGF i koncentracija TGF- β 1. U izlivenom dijalizatu određivane su koncentracije: glukoze, uree, kreatinina, albumina, VEGF i TGF- β 1. U urinu određivane su koncentracije uree i kreatinina. Kod svih bolesnika prevalentne grupe procenjen je kvalitet dijalize i transportni status trbušne maramice i registrovani su: incidenca peritonitisa u periodu pre ispitivanja, opterećenje glukozom i lečenje stimulatorima eritropoeze, inhibitorima angiotenzin-konvertujućeg enzima i statinima u trenutku ispitivanja. Ishod je verifikovan kod svih bolesnika.

Drugi deo studije obuhvatio je 20 incidentnih bolesnika koji su prećeni tokom prvih 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize, 11 muškaraca i 9 žena, prosečne starosti $62,90 \pm 12,69$ godina. Sve analize su rađene posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama kod bolesnika koji nisu imali kliničkih i laboratorijskih znakova peritonitisa ni drugih infekcija tokom prethodne 4 nedelje. Osnovno obolenje u ovoj grupi ispitanika je bilo: insulin-zavisni dijabetes melitus kod 5 bolesnika; insulin-nezavisni dijabetes melitus kod 3 bolesnika; nefroangioskleroza zbog dugogodišnje hipertenzije kod 3 bolesnika; glomerulska bolest koja nije patohistološki dokazana kod 1 bolesnice; opstruktivna nefropatija kod 1 bolesnika; hronična nefropatija nepoznatog uzroka kod 7 bolesnika.

Na početku hroničnog programa peritoneumske dijalize i posle 6 meseci lečenja kod bolesnika incidentne grupe određivani su u krvi: hemoglobin, hematokrit, feremija, feritin, saturacija gvožđa, ukupni kapacitet vezivanja gvožđa, glukoza, urea, kreatinin, ukupna proteinemija, albuminemija, elektroliti u serumu, parathormon, homocistein, fibrinogen, C-reaktivni protein, holesterol, trigliceridi, VEGF-a i TGF- β 1. U izlivenom dijalizatu određivane su koncentracije: glukoze, uree, kreatinina, albumina, VEGF, TGF- β 1 i Ca125. U urinu određivane su koncentracije uree i kreatinina. Kvalitet dijalize i transportni status trbušne maramice procenjivani su na početku hroničnom programa dijalize i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama. Kod svih bolesnika su praćeni: opterećenje glukozom i lečenje stimulatorima eritropoeze, inhibitorima angiotenzin-konvertujućeg enzima i statinima na početku hroničnog programa PD i posle 6 meseci lečenja. Posmatrana je učestalost peritonitisa tokom prvih 6 meseci lečenja PD i ishod je verifikovan kod svih bolesnika.

3.2.2 Biohemijske analize

Biohemijske analize krvi rađene su u Kliničko-biohemijskoj laboratoriji Kliničkog centra Srbije u Beogradu.

Krvne slike su rađene na automatskom hematološkom analizatoru *Beckman Coulter® HmX Hematology Analyzer*. Krv je izvađena u vakutajner epruvete sa K_3EDTA kao antikoagulansom. Princip rada brojača se zasniva na VCS tehnologiji (volumen, provodljivost, rasipanje svetlosti - *Volume, Conductivity, Light Scatter*), koja uključuje merenje volumena ćelija, merenje inteziteta svetlosti i visokofrekventne provodljivosti. Merenjem provodljivosti dobijaju se informacije o veličini, unutrašnjoj strukturi i gustini ćelije. Ova tehnologija omogućava jasnu diskriminaciju ćelija u diferencijaciji leukocita – limfocita, monocita, neutrofila, eozinofila i bazofila.

Hemoglobin je određivan cijanmethemoglobinskom metodom. Hemoglobin iz eritrocita se prevodi u stabilan pigment koji se određuje spektrofotometrijski i čija je apsorbanca proporcionalna koncentraciji hemoglobina u uzorku.

Glukoza, urea, kreatinin, albumin, natrijum (Na), kalijum (K), hloridi (Cl), kalcijum (Ca), fosfati (P), feremija (Fe), feritin, ukupni kapacitet vezivanja gvožđa (*total iron binding capacity, TIBC*), homocistein, Ca125 i parathormon (PTH) rađeni su na biohemijskom analizatoru *ARCHITECT ci8200, Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Germany*. Posle vađenja krvi u biohemijske vakutajner epruvete, serum je dobijen centrifugiranjem na 3000 obrtaja tokom 10 minuta. Principi testova za pojedinalčne biohemijske parametre navedeni su u daljem tekstu.

Glukoza se oksiduje molekulskim kiseonikom u prisustvu glukoza oksidaze u glukonsku kiselinu uz istovremeno izdvajanje vodonik-peroksida. Peroksidaza katalizuje proces oksidacije nastalog vodonik-peroksida sa 4 - aminoantipirinom i fenolom, pri čemu nastaje crveni hinonimin. Povećanje inteziteta obojenosti, tj. porast apsorbancije reakcione smeše, meri se na 510 nm i proporcionalan je koncentraciji glukoze u uzorku. Linearnost testa je od 0,28 – 44,40 mmol/l, a referentne vrednosti glukoze u serumu su 3,9 - 6,1 mmol/l.

Koncentracija uree u serumu, urinu i u izlivenom dijalizatu se određuje zahvaljujući hidrolizi uree u prisustvu ureaze, pri čemu nastaju amonijak i ugljenik (IV)-oksid. U prisustvu glutamat dehidrogenaze (GLDH) i NADH stvoreni amonijak reaguje sa (α)-2-ketoglutaratom i nastaju L-glutamat i NAD^+ . Brzina smanjenja apsorbancije NADH, merena na 340 nm, direktno je proporcionalna koncentraciji uree u uzorku. Linearnost testa je do 44,6 mmol/l koncentracije uree, a referentne vrednosti uree u serumu su 2,5 - 7,5 mmol/l.

Kreatinin u serumu, urinu i u izlivenom dijalizatu je određivan kinetičkom metodom sa alkalnim pikratom. Kreatinin reaguje sa pikrinskom kiselinom u alkalnoj sredini gradeći žuto-narandžasti kompleks. Porast apsorbancije reakcione smeše, meri se na 500 nm i direktno je proporcionalan koncentraciji kreatinina u uzorku.

Linearnost testa od 17,7 – 3270,8 $\mu\text{mol/l}$, a referentne vrednosti kreatinina u serumu: 62 - 115 $\mu\text{mol/l}$ (muškarci) i 53 - 97 $\mu\text{mol/l}$ (žene).

Koncentracija uree i kreatinina u urinu zavisi od stepena funkcije bubrega i hidracije organizma. Koncentracija uree i kreatinina u izlivenom dijalizatu zavisi od transportnih karakteristika trbušne maramice i od kvaliteta dijalize.

Koncentracija albumina se određuje BCP procedurom koja se bazira na vezivanju boje bromkrezolljubičaste za humani albumin pri čemu se stvara obojen kompleks. Apsorbancija kompleksa meri se na talasnoj dužini od 604 nm i direktno je proporcionalna koncentraciji albumina u uzorku. Linearnost testa je do 110 g/l albumina, a referentne vrednosti albumina u serumu su 35 - 50 g/l (muškarci) i 34 - 48 g/l (žene).

Elektroliti (Na, K, Cl) određuju se pomoću elektroda selektivnih za svaki jon ponaosob. Razvijeni električni potencijal prolazi preko membrane između referentne i merne elektrode. Potencijal se poredi sa prethodno definisanim potencijalom kalibratora i konvertuje u jonsku koncentraciju. Linearnost testa za Na je do 200 mmol/l, za K do 10 mmol/l i za Cl do 150 mmol/l, a referentne vrednosti u serumu: Na 136 – 145 mmol/l, K 3,5 – 5,1 mmol/l i Cl 98 - 107 mmol/l.

Koncentracija kalcijuma u serumu se određuje kolorimetrijskom metodom sa o-krezolftaleinom, sa kojim joni kalcijuma reaguju u izrazito baznoj sredini stvarajući ljubičasti kompleks. Povećani intenzitet obojenosti, tj. povećana apsorbancija rastvora, se meri bihromatski na 570/660 nm i proporcionalna je koncentraciji kalcijuma u uzorku. Linearnost testa je od 2 - 24 mmol/l, a referentne vrednosti kalcijuma u serumu su 2,10 - 2,70 mmol/l.

Fosfor se određuje u reakciji sa amonijummolibdatom kada stvara heterofilni kompleks. Apsorbancija obojenog jedinjenja meri se na 340 nm i direktno je proporcionalna koncentraciji neorganskog fosfata u uzorku. Linearnost testa je do 8,17 mmol/l, a referentne vrednosti fosfora u serumu su 0,74 – 1,52 mmol/l.

Feremija se određuje u kiseloj sredini u kojoj se oslobađa feri jon iz transferina. Feri jon se prevodi u fero jon u reakciji sa hidroksianilin hidrohloridom. Oslobođen fero jon reaguje sa FERENE i produkuje obojen Fe-FERENE kompleks. Apsorbancija kompleksa se meri na 604 nm i proporcionalna je koncentraciji gvožđa u uzorku. Linearnost testa je do 318 $\mu\text{mol/l}$, a referentne vrednosti koncentracije gvožđa u serumu su 5,5 - 25,78 $\mu\text{mol/l}$ (muškarci) i 4,48 - 27,92 $\mu\text{mol/l}$ (žene).

Test za PTH je *Architect Intact* dvostepeni sendvič imunoesej koji za kvantifikaciju koristi CMIA tehnologiju. U prvom koraku mešaju se uzorak, esej diluent i partikule obložene monoklonskim antitelima na PTH. Posle ispiranja, u drugom

koraku, reakcionoj smesi se dodaju anti-PTH antitela obeležena akridinijumom, koja stvaraju konjugate sa PTH, vezanim za antitela na partikulama u prvom koraku. Zatim se dodaju obeleživači i kao rezultat dolazi do hemiluminiscentne reakcije merene u jedinicama relativne svetlosti (RLUS), koja odgovara vrednosti PTH u uzorku. Linearnost testa je od 65,6 – 2257,0 pg/ml, a referentne vrednosti PTH u serumu su 35,6 – 68,3 pg/ml.

Koncentracija Ca125 u serumu i u izlivenom dijalizatu se određuje kao dvostepeni imunoesej u kome je antitelo OC125 CMIA tehnologijom. U prvom koraku mešaju se uzorak i partikule obložene antitelima na OC125. Posle ispiranja, u drugom koraku, reakcionoj smesi se dodaju M11 – antitela na OC125 obeležena akridinijumom, koja stvaraju konjugate sa antigenom vezanim za antitela na partikulama. Zatim se dodaju obeleživači i kao rezultat dolazi do hemiluminiscentne reakcije merene u jedinicama relativne svetlosti (RLUS), koja odgovara koncentraciji Ca125 u uzorku. Linearnost testa je $100 \pm 15\%$, a referentna vrednost Ca125 u serumu je do 35 U/l.

Koncentracija homocisteina se određuje jednostepenim imunoesejom CMIA tehnologije. Vezani ili dimerizovani homocistein u oksidovanoj formi se redukuje preko ditriotreitola (DTT) do slobodnog homocisteina koji se zatim prevodi u S-adenozil homocistein (SAH) u reakciji sa enzimom S-adenozil homocistein hidrolazom. SAH se potom vezuje za antitela na adenzil, obeležena akridinijumom, kojim su obložene mikropartikule. Posle koraka ispiranja, magnetne separacije i dodavanja obeleživača reakcionoj smesi, dobija se hemiluminiscencija koja se meri jedinicama relativne svetlosti (RLUS). Linearnost testa je od 1,00 do 50,00 $\mu\text{mol/l}$, a referentne vrednosti homocisteina u serumu su 5,46 – 16,20 $\mu\text{mol/l}$ (muškarci) i 5,08 – 15,39 $\mu\text{mol/l}$ (žene).

Koncentracija fibrinogena se određuje u krvnoj plazmi na analizatoru BCS® System SIEMENS. Krv se vadi u vakutajner epruvete u kojima je antikoagulans citrat. Plazma se izdvaja posle centrifugiranja na 3000 obrtaja tokom 10 minuta. Koristi se multifibrin kao reagens, a koncentracija fibrinogena određuje se modifikovanom Clauss-ovom metodom. Referentne vrednosti fibrinogena u serumu su 2,1 – 4,0 g/l.

Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a su određivane u serumu i u izlivenom dijalizatu pomoću ELISA testa R&D Systems.

Za određivanje TGF- β 1 pomoću sendvič enzimskog imunoeseja korišćen je test Quantikine® Human TGF- β 1, R&D Systems, USA & Canada. Monoklonskim antitelima specifičnim za TGF- β 1 su obložene mikroploče. Pipetiranjem uzorka u čašice prisutni TGF- β 1 u uzorku se veže za antitela na pločama. Posle ispiranja nevezanih supstanci i posle dodavanja poliklonalnih antitela specifičnih za TGF- β 1, obeleženih enzimom, dolazi do novog sendvič vezivanja. U sledećem koraku

ispiranja, obeležena antitela i ona koja nisu vezana za enzim se uklanjaju i po dodatku supstrata u čašice razvija se boja koja je proporcionalna količini TGF- β 1 u uzorku. Razvijanje boje se zaustavlja i meri se intezitet obojenja. Kada su količina TGF- β 1 u uzorku visoke, linearnost testa se postiže razblaživanjem uzorka kalibratorom diluenta. Referentne vrednosti TGF - β 1 u serumu su 18,289-63,416 pg/ml, a u urinu od nedetektibilnosti do 257 pg/ml. Ne postoje referentne vrednosti koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu.

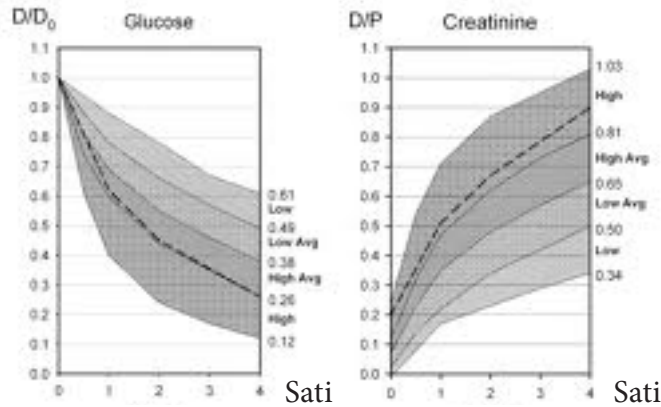
I VEGF je određivan pomoću sendvič enzimskog imunoeseja. Korišćen je test *Quantikine® Human VEGF, R&D Systems, USA & Canada*. Monoklonskim antitelima specifičnim za VEGF su obložene mikroploče. Pipetiranjem uzorka u čašice VEGF iz uzorka se veže za antitela na pločama. Posle ispiranja nevezanih supstanci i posle dodavanja poliklonskih antitela specifičnih za VEGF, obeleženih enzimom, dolazi do novog sendvič vezivanja. U sledećem koraku ispiranja, obeležena antitela koja nisu vezana za enzim se uklanjaju i po dodatku supstrata u čašice razvija se boja koja je proporcionalna količini VEGF-a u uzorku. Razvijanje boje se zaustavlja i meri se intezitet obojenja. Kod visokih količina VEGF-a u uzorku, linearnost testa se postiže razblaživanjem uzorka tačnom količinom kalibrator diluenta. Referentne vrednosti VEGF-a u serumu su 91-103 pg/ml; u citratnoj plazmi VEGF je nedetektibilan (ND); u hepariniziranoj plazmi od ND do 55 pg/ml; u EDTA plazmi od ND do 115 pg/ml. Ne postoje referentne vrednosti koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu.

3.2.3 Testovi za procenu kvaliteta peritoneumske dijalize

3.2.3.1 Transportni status

Test peritoneumskog ekvilibrijuma omogućava semikvantitativnu procenu transportnih karakteristika peritoneumske membrane bolesnika na PD.

Brzina prenosa rastvorenih materija kroz peritoneumsku membranu procenjuje se na osnovi ravnoteže između njihovih koncentracija u kapilarnoj krvi i u dijaliznoj tečnosti. Količnik između koncentracija rastvorenih materija u dijalizatu i u plazmi (D/P količnik) u određenim vremenskim razmacima (t) tokom dijalizne izmene ukazuje na brzinu dostizanja ravnoteže. Transportni status može da se procenjuje za bilo koju rastvorenu materiju koja se prenosi iz kapilarne krvi u dijaliznu tečnost. U kliničkoj praksi se najčešće određuju transportni statusi kreatinina, uree, elektrolita, belančevina i glukoze i bolesnici na PD se prema brzini prenosa rastvorenih materija dele u četiri kategorije: brzi, srednje brzi, srednje spori i spori transporteri (25, 26, 27, 28).



Slika 13 – Grafikon za izračunavanje transportnog statusa

Legenda: D/D_0 =koncentracija glukoze u dijalizatu/koncentracija glukoze u dijalizatu na početku dijalizne izmene; D/P =koncentracija kreatinina u dijalizatu/koncentracija kreatinina u plazmi; *Low*=spor; *Low Avg*=srednje spor; *High*=brz; *High Avg*=srednje brz

3.2.3.2 Klirensi uree i kreatinina

Kvalitet dijalize procenjen je izračunavanjem ukupnog nedeljnog Kt/V i ukupnog nedeljnog klirensa kreatinina.

Kt/V je količnik kojim se procenjuje kvalitet peritoneumske dijalize:

K = dijalizni klirens uree

t = trajanje dijalize

V = volumen distribucije uree, koji aproksimativno odgovara ukupnom volumenu telesne vode

K (klirens) pomnožen sa t (vreme) je volumen (ml/min x min = ml, ili l/čas x čas = l) i predstavlja volumen krvi u mililitrima ili u litrima koji se očisti od uree (ili bilo koje druge rastvorene materije) tokom određenog vremena.

V je volumen u mililitrima ili u litrima.

Kt/V je broj volumena plazme koji su prečišćeni od uree podeljen sa volumenom distribucije uree.

Peritoneumska dijaliza se obavlja kontinuirano i kvalitet dijalize se procenjuje u sedmodnevnom intervalu (141, 142, 143):

$$\text{ukupni nedeljni } Kt/V = 7 \times (DV \times D/P_{\text{Urea}} + UV \times U/P_{\text{Urea}})/V$$

DV: 24-časovni drenirani dijalizat u litrima

UV: 24-časovna diureza u litrima

D/P: koncentracija uree u dijalizatu/ koncentracija uree u plazmi

U/P: koncentracija uree u urinu/ koncentracija uree u plazmi

V: volumen telesne vode

Volumen telesne vode izračunava se formulama po *Watson-u* (144):

$$V_{\text{Žena}} : -2,447 + 0,1069 \times TV + 0,2466 \times TT$$

$$V_{\text{Muškarci}} : 2,447 - 0,09516 \times S + 0,1074 \times TV + 0,3362 \times TT$$

TV : telesna visina (centimetri)

TT : telesna težina (kilogrami)

S : starost (godine)

Ukupni nedeljni klirens kreatinina izračunava se pomoću formule:

$$Ccr = 7 (DV \times D/P_{\text{Kreatinin}} + UV \times U/P_{\text{Kreatinin}}) \times 1,73/BSA$$

$D/P_{\text{Kreatinin}}$: koncentracija kreatinina u dijalizatu/koncentracija kreatinina u plazmi

$U/P_{\text{Kreatinin}}$: koncentracija kreatinina u urinu/koncentracija kreatinina u plazmi

Površina tela (*body surface area*, BSA) izračunava se *Dubois-Dubois* fomulom (145, 146):

$$BSA = 71,84 \times TT^{0,425} \times TV^{0,725} \times 10^{-4}$$

Jačina katabolizma belančevina (*protein catabolic rate*, PCR) i normalizovana jačina katabolizma belančevina (*normalized protein catabolic rate*, nPCR) izračunava se formulom po *Bergstrom-u* (147, 148):

$$PCR = 10,76 \times (GUN + 1,46)$$

Jačina generacije uree (*urea nitrogen generation rate*, GUN) izračunava se formulom po *Randerson-u*:

$$GUN = 10 \times (UV \times V_{UN} + DV \times D_{UN})/1440$$

V_{UN} : koncentracija uree u urinu (mg/dl)

D_{UN} : koncentracija uree u dijalizatu (mg/dl)

PCR se izražava u gramima za 24 sata (1440 minuta). Normalizovani PCR se izražava u gramima po kilogramu TT za 24 sata i normalizuje se prema standardnoj težini (V/0,58):

$$nPCR = 0,58PCR/V$$

Rezidualna bubrežna funkcija se izračunava kao srednja vrednost zbira rezidualnog klirensa uree i rezidualnog klirensa kreatinina (148).

3.3 STATISTIČKA ANALIZA

U prikazivanju rezultata istraživanja korišćene su statističke tabele distribucije frekvencija, kao i neposredna analiza tabelarnih podataka i analiza na osnovu grafičkog prikazivanja. Prikazani podaci, bilo u apsolutnim ili relativnim brojevima služili su za uočavanje karakteristika i donošenje zaključaka.

Za testiranje značajnosti razlike obeležja korišćeni su :

1. neparametrijski testovi i testovi proporcije:
 - χ^2 test, koeficijent varijacije
 - medijana test, percentili (25-75%)
 - *Kruskal-Wallis Z-test, Mann-Whitney U-test*
2. parametrijski testovi kod numeričkih obeležja:
 - prosečne vrednosti i standardna devijacija sa 95% intervalima pouzdanosti, sa minimalnim i maksimalnim vrednostima posmatranih serija.

Za testiranje značajnosti razlike parametrijskih obeležja korišćeni su testovi:

- *Student-ov T* test za normalnu distribuciju
- jednofaktorska i dvofaktorska analiza varijansi - *Anova* test
- medijana i U test za serije sa KV<30%.

Za testiranje povezanosti parametara korišćeni su:

- *Spearman-ova* i *Pearson-ova* korelacija
- trendovi kretanja određenih parametara kroz vreme, sa intervalima pouzdanosti 95%.

Za određivanje prediktorske snage određenih parametara na faktore rasta korišćena je:

- multivarijantna regresiona analiza.

Za testiranje senzitivnosti i specifičnosti faktora rasta korišćena je:

- *ROC* kriva.

Za određivanje verovatnoće praćenja i preživljavanja korišćena je:

- *Kaplan-Meier-ova* kriva.

Za testiranje povezanosti parametara korišćena je:

- multipla regresiona analiza.

Statistička obrada i analiza urađena je u *SPSS-u* ver. 20, a grafičko i tabelarno prikazivanje urađeno je u *MICROSOFT OFFICE-u*, tj. u *EXCEL-u*, u *WORD-u* i u *POWER POINT-u*.

4

REZULTATI

4.1 REZULTATI EKSPERIMENTALNE STUDIJE

Jedanaest od 17 zečeva koji su uključeni u eksperimentalnu studiju, završili su petonedeljno praćenje – nedelju dana oporavka posle implantacije peritoneumskog katetera i 4 sedmice instilacija dijaliznog rastvora (Slika 14).



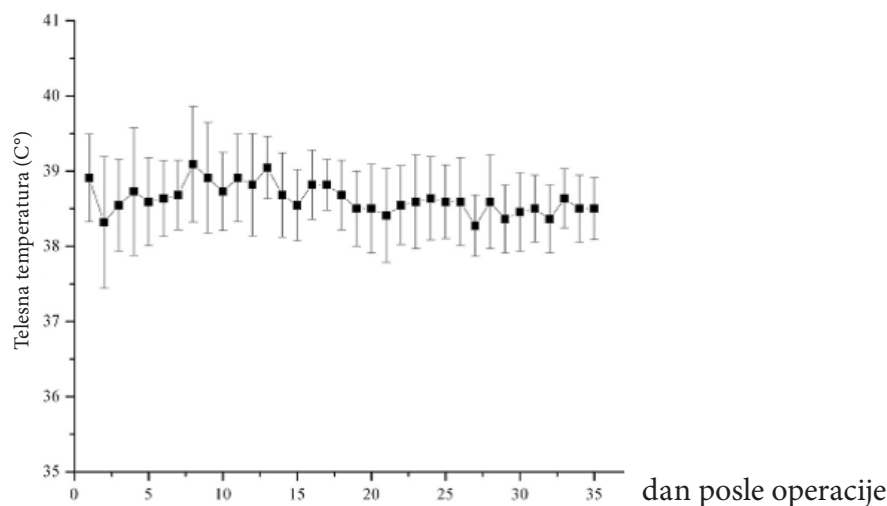
Slika 14 - Eksperimentalna životinja tokom praćenja

Četiri zeca su isključena iz eksperimentalne studije usled gubitka katetera (3 su imali dvolumenski terapijski centralni venski kateter i jedan je imao improvizovani kateter od skraćenog infuzionog sistema).

Jedan zec je uginuo zbog predoziranja anestetikom tokom hirurške procedure implantacije katetera i jedan je egzistirao dan posle implantacije katetera. Ukupno 64,5% životinja je završilo petonedeljni period praćenja, sa stopom preživljavanja 85%.

Smanjena doza anestetika, prilagođena u toku eksperimenta, bila je dovoljna za adekvantnu hiruršku proceduru implantacije i evakuacije peritoneumskog katetera, i nisu registrovane neželjene nuspojave kod eksperimentalnih životinja. Zečevi su se kompletno oporavili neposredno posle hirurške intervencije.

Instilacija pune doze dijalizata na početku praćenja uzrokovala je kod prvog posmatranog zeca tranzitornu epizodu dispneje. Dispneja se spontano smirila u roku od par sati. Problem je prevaziđen instilacijom dijalizata u dozi od 60 ml prvog dana tretmana, a zatim je količina dijalizne tečnosti povećavana za po 10 ml dnevno do maksimalne doze od 40 ml/kg telesne težine. Dijalizna tečnost je postepeno instilirana zečevima tokom 5 do 7 minuta i eksperimentalne životinje su odlično podnosile instilaciju. Tokom perioda praćenja, zečevi su uglavnom imali normalnu telesnu temperaturu (Grafikon 1) i dobijali su na na telesnoj težini (Grafikon 2).

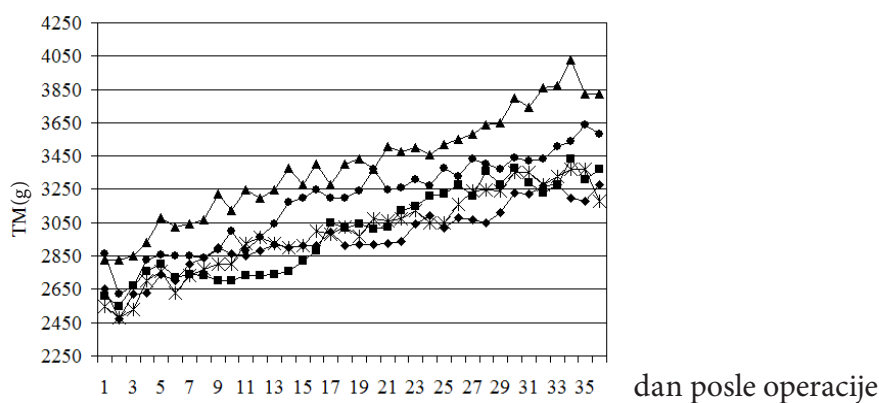


Grafikon 1 – Telesna temperatura ispitivanih životinja u postoperativnom toku (srednja vrednost \pm SD)

Nije dijagnostikovana nijedna infekcija rane tokom perioda praćenja.

Nije registrovana nijedna obstrukcija peritonealnog katetera tokom perioda praćenja.

Posumnjano je na jednu epizodu peritonitisa tokom eksperimentalne studije. Jedan zec je dobio dijareju četvrtog dana instilacije dijalizata. I pored toga što je izgubio na težini samo 100 g tokom 24 sta, što je iznosilo manje od 5% od ukupne telesne mase, i telesna temperatura nije prešla 39°, eksperimentalna životinja je dobila cefuroksim intraperitoneumski i gentamicin intramuskularno tokom 7 dana. Dijareja je nestala posle 3 dana primene antibiotika.



Grafikon 2 – Telesna težina kod 5 praćenih životinja u postoperativnom toku

Legenda: TM=telesna masa

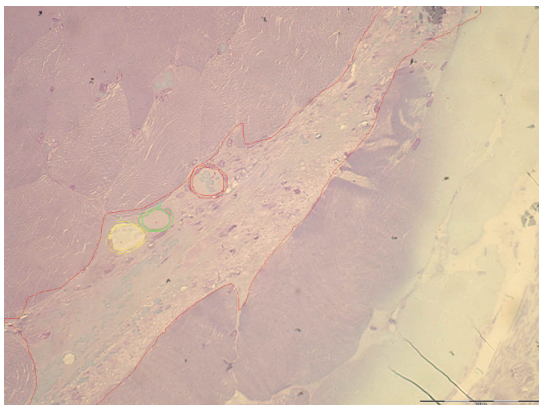
—●— Zec 1 —■— Zec 2 —▲— Zec 3 —*— Zec 4 —◆— Zec 5

Svi zečevi su imali svakodnevno diurezu i stolicu. Jedini izuzetak je bila opstipacija dvanaestog dana posle implantacije peritoneumskog katetera kod jednog zeca. Eksperimentalna životinja je klistirana sa 20 ml sapunice i posle toga je imala svakodnevno stolicu i njena telesna masa konstantno je rasla do završetka studije.

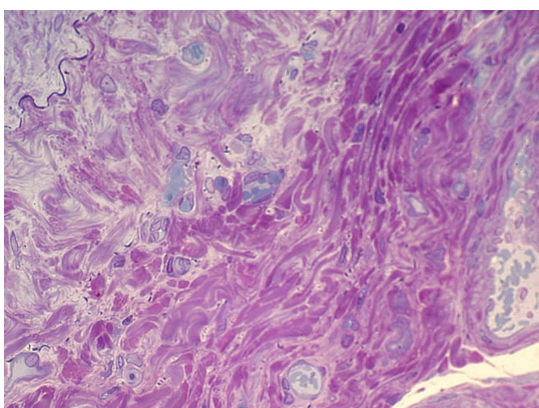
Kod jedne eksperimentalne životinje primećeno je curenje dijalizata u potkožno tkivo trbuha dvadeset sedmog dana eksperimentalnog protokola. Curenje dijalizata je smanjeno usporavanjem brzine instilacije dijalizata.

Krvni sudovi u uzorcima trbušne maramice analizirani su svetlosnom mikroskopijom (SM). U uzorcima tkiva uzetim pre izlaganja dijaliznom rastvoru nađeni su krupni krvni sudovi sa širokim lumenom i tankim zidovima (Slika 15).

U submezotelnom vezivnom tkivu peritoneuma zeca pre izlaganja dijaliznim rastvorima prisutni su fibroblasti, kolagena i elastična vlakna. Fibroblasti su krupni i jako razgranati i samo delimično se vizualizuju u pojedinim preparatima (Slika 16).



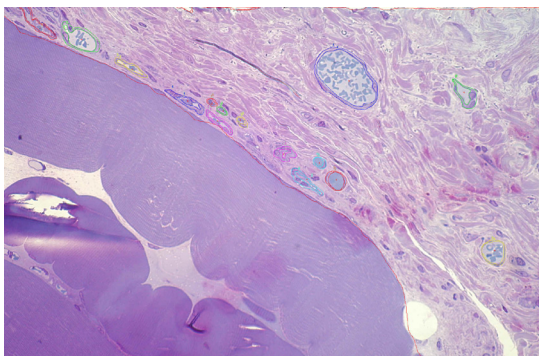
Slika 15 – Krvni sudovi peritoneumske membrane zeca pre izlaganja dijaliznom rastvoru (SM, bojenje HE, originalno uvećanje 80x)



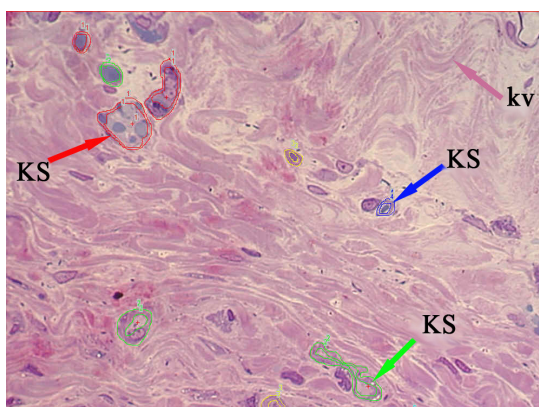
Slika 16 – Submezotelno tkivo trbušne maramice eksperimentalne životinje pre izlaganja dijaliznom rastvoru (SM, bojenje HE, originalno uvećanje 250x)

U uzorcima tkiva uzetim posle izlaganja dijaliznom rastvoru nađeni su mnogobrojni krvni sudovi sa debelim zidovima (Slika 17).

Spoljašnji i unutrašnji obodi poprečno presečenih krvnih sudova su digitalno obeleženi za morfometrijsko ispitivanje (Slika 18).



Slika 17 – Krvni sudovi peritoneumske membrane zeca posle izlaganja dijaliznom rastvoru (SM, bojenje HE, originalno uvećanje 80x)



Slika 18 – Krvni sudovi peritoneumske membrane zeca posle izlaganja dijaliznom rastvoru (SM, bojenje HE, originalno uveličanje 250x)

Legenda: KS-krvni sud; kv-kolageno vlakno

Morfometrijska analiza je dokazala značajne razlike građe krvnih sudova pre i posle izlaganja dijaliznoj tečnosti (Tabela 6).

Kako unutrašnja, tako i spoljašnja površina transverzalno presečenih krvnih sudova, kao i njihov unutrašnji, odnosno spoljašnji dijametar, bili su značajno veći pre izlaganja dijaliznim rastvorima ($p < 0,05$). Zidovi krvnih sudova su bili tanji posle izlaganja dijaliznim rastvorima u odnosu na početak studije, ali bez statističke značajnosti razlike. Odnos između preseka lumena i debljine zida nije se značajno promenio tokom izlaganja dijaliznim rastvorima. Gustina krvnih sudova bila je veća posle izlaganja dijalizatu ($24,27$ krvnih sudova/ $100000\mu\text{m}^2$) nego na početku studije

(9,05 krvnih sudova/100000 μm^2). Procenat površine tkiva prekriven krvnim sudovima bio je manji posle izlaganja dijaliznim rastvorima u odnosu na početak studije (2,70 vs 5,23), iako je broj krvnih sudova bio veći posle dijalize, jer su krvni sudovi manjeg preseka u odnosu na početak studije.

Tabela 6 – Morfološki parametri peritoneumskih krvnih sudova pre i posle izlaganja dijaliznim rastvorima

	pre PD (Xsr \pm SD)	posle PD (Xsr \pm SD)	p (t test)
spoljna površina (μm^2)	578,15 \pm 132,99	174,79 \pm 159,91	<0,05
spoljni dijametar (μm)	97,25 \pm 11,09	49,92 \pm 24,62	<0,05
površina lumena (μm^2)	401,24 \pm 107,92	105,51 \pm 99,35	<0,05
dijametar lumena (μm)	83,75 \pm 11,75	41,58 \pm 23,80	<0,05
debljina zida (μm)	6,75 \pm 1,07	4,17 \pm 2,11	<0,05
DL/DZ	12,72 \pm 3,45	12,88 \pm 13,71	<0,05

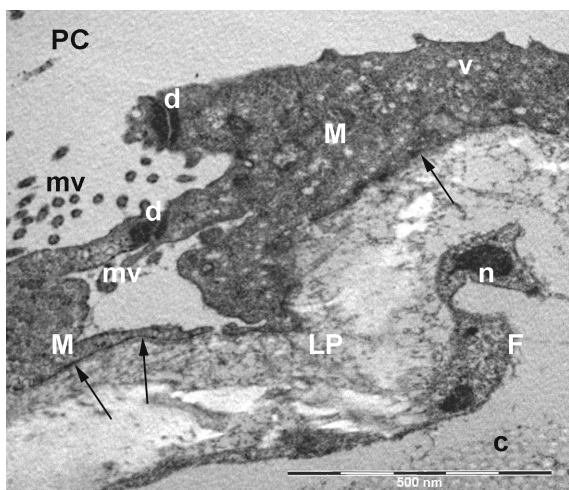
Legenda: PD = peritoneumska dijaliza; Xsr = srednja vrednost; SD = standardna devijacija; DL = dijametar lumena; DZ = debljina zida

Transmissionom elektronskom mikroskopijom (TEM) uzoraka trbušne maramice zečeva koji su uzeti pre izlaganja dijaliznim rastvorima pokazali su pljosnate ili nepravilne kuboidne mezotelne ćelije (Slika 19). Susedne mezotelne ćelije spojene su interćelijskim vezama, uglavnom dezmozomima (Slika 19). Apikalna plazmalema stvara mnogobrojna izbočenja citoplazme – mikrovile. U apikalnom i drugim delovima plazmaleme prisutne su pinocitozne vezikule (Slika 19).

Struktura krvnog suda trbušne membrane zeca pre izlaganja dijalizatu ispitivana transmissionom elektronskom mikroskopijom pokazana je na Slici 20.

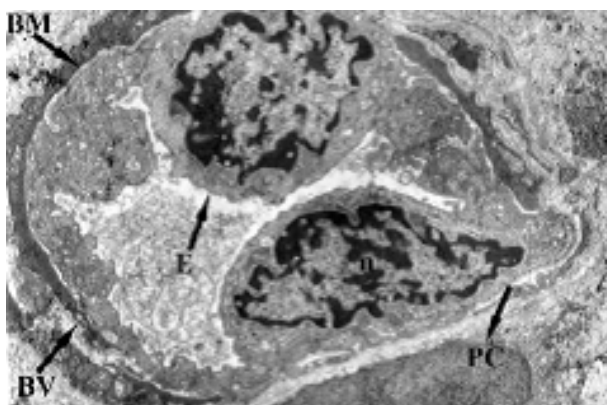
Prilikom ispitivanja krvnih sudova trbušne maramice na TEM viđen je jedan sloj endotelnih ćelija raspoređenih na kontinuiranoj, jednostrukoj bazalnoj membrani. Endotelne ćelije su izdužene, sa krupnim, uglavnom euhromatičnim jedrom u središtu citoplazme (Slika 20).

Mitochondrije, ribozomi, pinocitozne vezikule, dobro razvijen *Golgi*-ev aparat i endoplazmin retikulum su prisutni u citoplazmi endotelnih ćelija. Viđeni su periciti sa dugim, prstolikim produžecima (Slika 20).



Slika 19 – Elementi trbušne maramice eksperimentalne životinje pre izlaganja dijaliznom rastvoru (TEM)

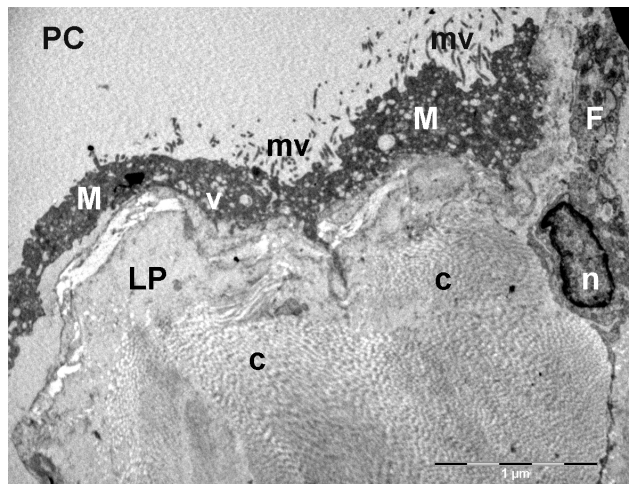
Legenda: Pc – peritoneumska duplja; M – mezotelna ćelija; LP – lamina propria; F – fibroblast; n – jedro; mv – mikrovili; v – vezikule; d – dezmozomi; c – kolagen; strelice – bazalna membrana.



Slika 20 – Krvni sud peritoneuma zeca pre izlaganja dijaliznim rastvorima (TEM, originalno uveličanje x 30000)

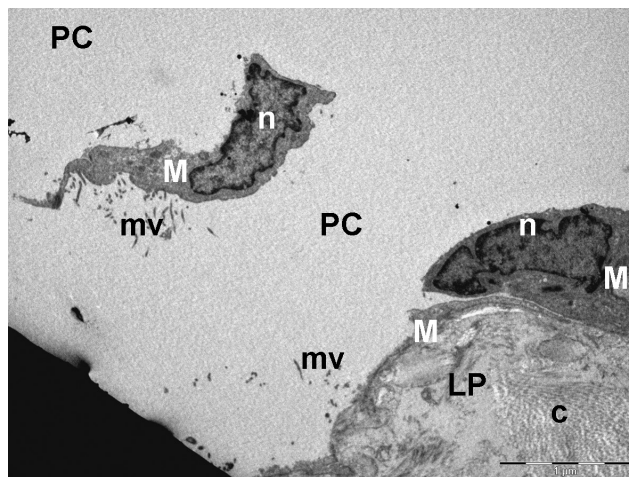
Legenda: BV – krvni sud (*blood vessel*); E – endotelna ćelija; BM – bazalna membrana; PC – pericit; n – nukleus

TEM analiza uzoraka trbušne maramice zečeva posle perioda izlaganja dijaliznom rastvoru dokazala je promene kako mezotelnog pokrivača, tako i submezotelnog tkiva. Posle izlaganja dijaliznim rastvorima, mezotelne ćelije su pljosnate (Slika 21). Njihova jedra su euhromatična, sa prominentnim nukleolima. Brojne transportne vezikule se zapažaju po celoj citoplazmi, kao i povećan broj mikrovila na apikalnoj plazmalemi mezotelnih ćelija (Slika 21).



Slika 21 – Peritoneum zeca posle instilacija dijalizata (TEM)

Legenda: Pc – peritoneumska duplja; M – mezotelna ćelija; LP - lamina proprija; F - fibroblast; n - nukleus; mv - mikrovili; v - vezikule; c – kolagen



Slika 22 – Odlubljena mezotelna ćelija tokom lečenja peritoneumskim dijalizama (TEM)

Legenda: Pc – peritoneumska duplja; M – mezotelna ćelija; LP - lamina proprija; F - fibroblast; n - nukleus; mv - mikrovili; v - vezikule; c – kolagen

U submezotelnom tkivu se nalaze fibroblasti okruženi snopovima kolagenih vlakana raspoređenih u različitim pravcima. U citoplazmi fibroblasta prisutna su euhromatična jadra i brojne sekretorne granule, vezikule i mitohondrije (Slika 21). Pojedine mezotelne ćelije se odlubljuju (Slika 22).

4.2 REZULTATI KLINIČKE STUDIJE

4.2.1 Deskriptivna statistika bolesnika incidentne i prevalentne grupe

Istraživanje je obuhvatilo 83 bolesnika, koji su svrstani u dve grupe.

Incidentnu grupu (Grupa 1) činilo je 20 bolesnika koji su praćeni 6 meseci. Ispitivanja su obavljena na početku hroničnog programa dijalize (Grupa 1A) i posle 6 meseci lečenja (Grupa 1B).

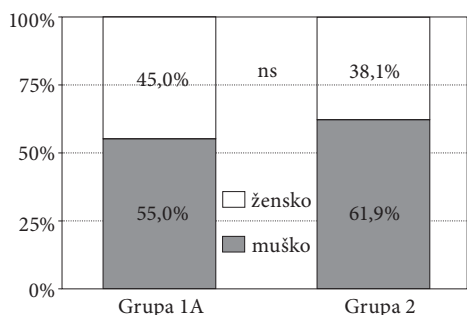
Prevalentnu grupu (Grupa 2) činila su 63 bolesnika. Planirana ispitivanja su urađena kod ispitanika ove grupe u okviru studije preseka.

Tabela 7. Distribucija obolelih prema polu u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

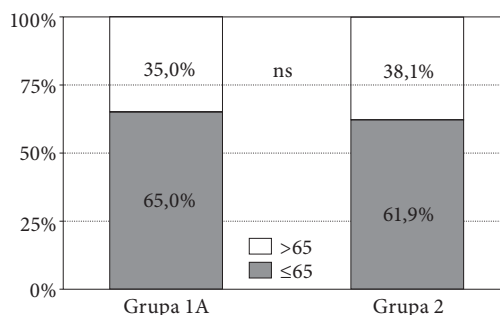
		Grupa 1A		Grupa 2		P
		N	%		%	
pol	muškarci	11	55,0%	39	61,9%	0,423 0,583
	žene	9	45,0%	24	38,1%	
p		0,655		0,059		

Legenda: N = broj; p = značajnost

U incidentnoj grupi bilo je 11 (55%) muškaraca i 9 (45%) žena. U prevalentnoj grupi bilo je 39 (61,9%) muškaraca i 24 (38,1%) žena (Tabela 7).



Grafikon 3. Distribucija obolelih prema polu u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)



Grafikon 4. Distribucija obolelih prema starosti u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

Bolesnici iz incidentne grupe na početku lečenja hroničnim programom PD (Grupa 1A) i bolesnici iz prevalentne grupe (Grupa 2) nisu se značajno razlikovali po polu (Grafikon 3).

U Grupi 1A bilo je 13 (65%) bolesnika mlađih od 65 godina i 7 (35%) bolesnika starijih od 65 godina. U Grupi 2 bilo je 39 (61,9%) bolesnika mlađih od 65 godina i 24 (38,1%) bolesnika starijih od 65 godina (Tabela 8). Grupa 1A i Grupa 2 nisu se značajno razlikovale po broju bolesnika starijih i mlađih od 65 godina (Grafikon 4).

Tabela 8. Distribucija obolelih prema starosti u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A		Grupa 2		P
		N	%	N	%	
starost (god.)	≤ 65	13	65,0%	39	61,9%	0,623 0,803
	>65	7	35,0%	24	38,1%	
p		0,180		0,059		

Legenda: god. = godine

U incidentnoj grupi na početku lečenja hroničnim programom PD bilo je 9 (45%) bolesnika bez šećerne bolesti (diabetes mellitus, DM) i 11 (55%) bolesnika sa DM; 5 (25%) je imalo DM tip I, a 6 (30%) DM tip II. U prevalentnoj bilo je 32 (50,8%) bolesnika bez DM i 31 (48,2%) bolesnika sa DM; 15 (23,8%) je imalo DM tip I, a 16 (25,4%) DM tip II (Tabela 9). U Grupi 2 bilo je statistički značajno više bolesnika bez šećerne bolesti od bolesnika sa DM tip I i sa DM tip II (Tabela 9).

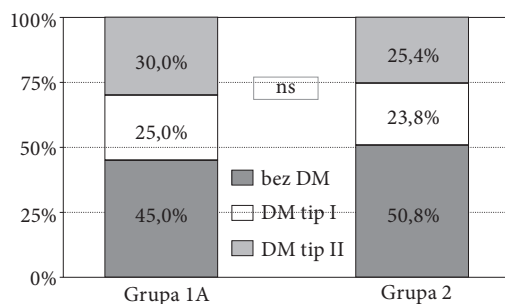
Tabela 9. Distribucija obolelih prema prisustvu i tipu šećerne bolesti u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A		Grupa 2		p
		N	%	N	%	
prisustvo i tip DM	bez DM	9	45,0%	32	50,8%	0,673
	DM tip I	5	25,0%	15	23,8%	0,650
	DM tip II	6	30,0%	16	25,4%	0,890

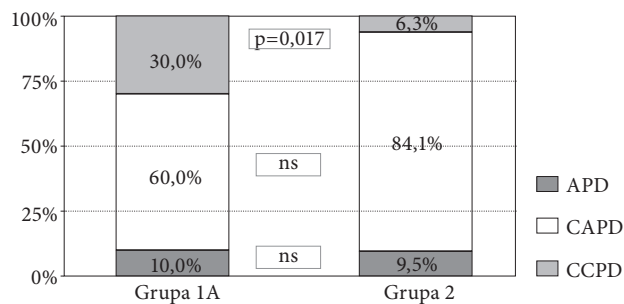
Legenda: DM = diabetes mellitus

Grupa 1A i Grupa 2 nisu se značajno razlikovale po broju dijabetičara, ni po broju bolesnika sa različitim tipom DM (Grafikon 5).

U incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD 2 (10%) bolesnika su lečeni automatskom PD (*automated peritoneal dialysis*, APD), 12 (60%) bolesnika je bilo na programu kontinuirane ambulatorne peritoneumske dijalize (*continuous ambulatory peritoneal dialysis*, CAPD) i 6 (30%) na programu ciklične peritoneumske dijalize (*continuous cyclic peritoneal dialysis*, CCPD). U prevalentnoj grupi 6 (9,5%) bolesnika je lečeno APD-om, 53 (84,1%) CAPD-om i 4 (6,3%) CCPD-om (Tabela 10).



Grafikon 5. Distribucija obolelih prema prisustvu i tipu DM u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)



Grafikon 6. Distribucija obolelih prema modalitetu dijalize u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

U Grupi 1A statistički značajno veći broj bolesnika dijaliziran je CCPD metodom (30%) nego u Grupi 2 (6,3%) ($p=0,017$). U Grupi 2 CAPD je najzastupljeniji modalitet (84,1%), ali razlika sa Grupom 1A (60%) nije bila značajna (Grafikon 6).

Tabela 10. Distribucija obolelih prema modalitetu dijalize u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A		Grupa 2		p
		N	%	N	%	
modalitet peritoneumske dijalize	APD	2	10,0%	6	9,5%	0,456
	CAPD	12	60,0%	53	84,1%	0,236
	CCPD	6	30,0%	4	6,3%	0,017*

Legenda: APD = automatska peritoneumska dijaliza; CAPD = kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza; CCPD = kontinuirana ciklična peritoneumska dijaliza

U grupi incidentnih bolesnika na početku hroničnog programa PD prosečna starost bolesnika je bila $62,9 \pm 12,69$ godina, telesna visina $170,6 \pm 7,96$ cm, telesna masa $69,99 \pm 8,97$ kg, BMI $24,03 \pm 2,52$, volumen telesne vode $36,81 \pm 5,12$ l, površina tela $1,81 \pm 0,15$ m².

U grupi prevalentnih bolesnika prosečna starost bolesnika bila je $61,97 \pm 11,01$ godina, telesna visina $171,25 \pm 9,81$ cm, telesna masa $73,03 \pm 11,9$ kg, BMI $24,86 \pm 3,34$, volumen telesne vode $38,15 \pm 6,31$ l, površina tela $1,86 \pm 0,19$ m².

Nabrojani antropometrijski parametri poređeni analizom varijansi nisu se značajno razlikovali između Grupe 1A i Grupe 2 (Tabela 11).

Bolesnici Grupe 1A i Grupe 2 ulivali su najmanje po 6 l dijalizata dnevno i izlivali količinu dijalizata veću od ulivene. Rezidualna diureza i rezidualni klirens kreatinina su nešto veći kod bolesnika u Grupi 1A nego u Grupi 2 (Tabela 12).

Tabela 11. Prosečna starost i antropometrijski parametri bolesnika u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

	Grupa	N	prosek±SD	95% int.pouz.		min.	max.	p
				donja	gornja			
starost (god.)	1A	20	62,9±12,69	56,96	68,84	29	83	0,752
	2	63	61,97±11,01	59,19	64,74	29	83	
V (l)	1A	20	36,81±5,12	34,41	39,2	27,62	43,69	0,392
	2	63	38,15±6,31	36,56	39,73	26,1	51,82	
BSA (m ²)	1A	20	1,81±0,15	1,74	1,87	1,51	2,05	0,240
	2	63	1,86±0,19	1,81	1,91	1,44	2,25	
TV (cm)	1A	20	170,6±7,96	166,87	174,33	158	185	0,787
	2	63	171,25±9,81	168,78	173,72	152	190	
TM (kg)	1A	20	69,99±8,97	65,79	74,19	52	82	0,296
	2	63	73,03±11,9	70,04	76,03	45	98	
BMI	1A	20	24,03±2,52	22,85	25,21	17,97	29,38	0,312
	2	63	24,86±3,34	24,01	25,7	17,58	35,44	

Legenda: V = volumen telesne vode; BSA = površina tela (*body surface area*); TV = telesna visina; TM = telesna masa; BMI = indeks telesne mase (*body mass index*); SD = standardna devijacija; int. pouzd.: interval pouzdanosti; min.: minimalno; max.: maksimalno

Tabela 12. Pokazatelji kvaliteta dijalize u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

	Grupa	N	prosek	SD	min.	max.	p
uk. ned. CrCl (l/nedeljno/1,73m ²)	1A	20	70,49	13,58	50,30	110,97	ns
	2	63	69,76	20,62	39,97	134,75	
uk. ned. Kt/V	1A	20	2,20	0,40	1,44	2,97	
	2	63	2,17	0,50	1,40	4,14	
rezidualna diureza (ml/dan)	1A	20	867,50	426,82	250,00	1500,00	
	2	63	718,10	469,39	0,00	1700,00	
klirens kreatinina (ml/min)	1A	20	3,31	1,74	0,97	6,70	
	2	63	3,04	2,11	0,00	7,57	
uliven dijalizat (ml/dan)	1A	20	8350,00	875,09	8000,00	11000,00	
	2	63	8503,87	1101,81	6000,00	12244,00	
izliven dijalizat (ml/dan)	1A	20	9189,25	1165,74	7500,00	12500,00	
	2	63	9583,57	1462,13	6425,00	14175,00	
PETglukoza	1A	20	0,40	0,23	0,10	0,97	
	2	63	0,39	0,17	0,09	0,97	
PETkreatinin	1A	20	0,61	0,17	0,15	0,88	
	2	63	0,64	0,11	0,37	0,89	
opterećenje glukozom (g/dan)	1A	20	114,69	12,22	100,00	140,00	
	2	63	120,84	20,43	96,00	172,40	
nPCR (g/kg TT/dan)	1A	20	0,86	0,18	0,56	1,30	
	2	63	0,92	0,24	0,44	1,90	

Legenda: uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; nPCR = normalizovana jačina katabolizma belančevina; ns = ne signifikantno

Tabela 13. Biohemijski nalazi u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

	Grupa	N	prosek	SD	min.	max.	P
PUr (mmol/l)	1A	20	18,94	5,47	11,5	30,4	ns
	2	63	18,23	5,24	9,2	30,4	
glikemija (mmol/l)	1A	20	6,25	2,38	3,8	12,8	
	2	63	5,96	2,33	2,2	14,7	
sCr (μmol/l)	1A	20	661,25	177,65	421	1078	
	2	63	705,32	219,26	381	1360	
albuminemija (g/l)	1A	20	31,3	5,2	19	39	
	2	63	31,62	5,63	19	45	
holesterol (mmol/l)	1A	20	5,58	1,71	2,99	9,1	
	2	63	5,31	1,49	3,45	12,3	
trigliceridi (mmol/l)	1A	20	1,86	0,95	0,92	4,3	
	2	63	2,11	0,92	0,63	5,14	
uk. proteini (g/l)	1A	20	63,2	7,33	53	78	
	2	63	61,25	7,57	43	78	
PTH (pg/ml)	1A	20	296,6	207,38	57	750	
	2	63	278,11	193,9	58	1105	
fibrinogen (g/l)	1A	20	5,5	1,41	3,4	8,37	
	2	63	5,47	1,79	1,8	9,5	
CRP (IU/l)	1A	20	6,3	6,04	0,2	20	0,001**
	2	63	12,16	16,51	0,2	89	
Fe (μmol/l)	1A	20	10,77	5	1	24,2	ns
	2	63	10,45	3,99	2,4	21	
TIBC (U/l)	1A	20	38,64	7,6	23	59	
	2	63	35,93	9,16	8,3	53	
ferritin (mmol/l)	1A	20	248,23	223,4	18	864	0,002**
	2	63	350,22	270,17	25,4	938	
HB (g/l)	1A	20	99,15	14,52	82	136	ns
	2	63	101,78	11,89	72	129	
HTC	1A	20	0,3	0,04	0,23	0,38	
	2	63	0,3	0,03	0,21	0,39	
SAT (%)	1A	20	30,5	14,09	12	65	
	2	63	27,19	9	4	61	

Legenda: PUR = koncentracija uree u plazmi; sCr = koncentracija kreatinina u serumu; PTH = parathormon; CRP = c-reaktivni protein; Fe = feremija; TIBC = ukupni kapacitet vezivanja gvožđa (*total iron binding capacity*); HB = hemoglobin; HTC = hematokrit; SAT = saturacija transferina

Prosečne vrednosti ukupnih nedeljnih klirensa uree i kreatinina su u skladu sa preporukama o kvalitetu dijalize kod ispitivanih bolesnika iz Grupe 1A i Grupe 2. Prosečne vrednosti nPCR su ispod 1 g/kgTM/dan u Grupi 1A i u Grupi 2. Klirensi uree i kreatinina i nPCR se nisu značajno razlikovali između Grupe 1A i Grupe 2 (Tabela 12).

Nije bilo statistički značajne razlike transportnog statusa (PET) glukoze i kreatinina između Grupe 1A i Grupe 2. Opterećenje glukozom zavisi od količine primenjenog dijalizata i od koncentracije glukoze u dijalizatu. Opterećenje glukozom je bilo slično u Grupi 1A i u Grupi 2 (Tabela 12).

Biohemijski nalazi u Grupi 1A i u Grupi 2 bili su u skladu sa osnovnim oboljenjima i načinom lečenja i nisu se značajno razlikovali u ispitivanim grupama (Tabela 13). Bolesnici Grupe 1A i Grupe 2 imaju zadovoljavajuće korigovane pokazatelje krvne slike i feremije i povećane vrednosti CRP-a i fibrinogena. Vrednosti CRP-a ($p=0,001$) i nivo feritina ($p=0,002$) su visoko statistički značajno veće u Grupi 2 nego u Grupi 1A (Tabela 13).

Koncentracije VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu u incidentnoj grupi na početku hroničnog lečenja PD i u prevalentnoj grupi nemaju normalnu distribuciju ($CV > 30\%$), pa su analizirane neparametrijskim testovima (Tabela 14).

Tabela 14. Koncentracije VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i dijalizatu u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

Grupa 1A

	N	prosek	SD	min.	max.	med.
sTGF- β 1 (ng/ml)	20	26,82	16,6	13,46	79,96	20,02
idTGF- β 1 (ng/ml)	20	0,9	0,84	0,65	4,36	0,65
sVEGF (pg/ml)	20	149,33	116,71	15,6	371,9	173,38
idVEGF (pg/ml)	20	38,44	50,47	15,6	189,7	15,6

Grupa 2

sTGF- β 1 (ng/ml)	63	29,74	13,71	9,1	63,7	25,26
idTGF- β 1 (ng/ml)	63	1,01	0,54	0,65	3,27	0,65
sVEGF (pg/ml)	63	231,84	173,91	15,6	958,92	216,02
idVEGF (pg/ml)	63	38,39	49,38	15,6	223,8	15,6

Testiranje razlika među grupama ukupno (Z test)

sTGF- β 1 (ng/ml)	Grupa 1A vs Grupa 2 $p=0,110$
idTGF- β 1 (ng/ml)	Grupa 1A vs Grupa 2 $p=0,060$
sVEGF (pg/ml)	Grupa 1A vs Grupa 2 $p=0,030^*$
idVEGF (pg/ml)	Grupa 1A vs Grupa 2 $p=0,791$

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; med.: medijana

Koncentracija sTGF- β 1 (TGF- β 1 u serumu) i idTGF- β 1 (TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu) je veća u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja hroničnim PD, ali ne statistički značajno (Tabela 14). Koncentracija sVEGF-a (VEGF u serumu) je značajno veća u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja PD ($p=0,030$). Koncentracija idVEGF-a (VEGF u izlivenom dijalizatu) je približno ista u prevalentnoj i u incidentnoj grupi na početku lečenja PD (Tabela 14).

Koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 su blago veće kod muškaraca i žena u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja PD. Koncentracije sVEGF-a su veće kod muškaraca i kod žena u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja.

Koncentracije idVEGF-a su veće kod bolesnika ženskog pola u incidentnoj grupi na početku lečenja nego u prevalentnoj grupi. Koncentracije idVEGF su veće kod muškaraca u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja. Ove razlike nisu statistički značajne (Tabela 15).

Tabela 15. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu kod žena i muškaraca u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A			Grupa 2			p G1A vs G2
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	muško	11	26,36	19,28	39	27,71	12,52	0,171
	žensko	9	27,39	13,76	24	33,04	15,15	0,293
idTGF- β 1 (ng/ml)	muško	11	0,77	0,27	39	0,97	0,54	0,258
	žensko	9	1,06	1,24	24	1,08	0,55	0,133
sVEGF (pg/ml)	muško	11	166,57	112,1	39	236,85	161,02	0,163
	žensko	9	128,25	125,43	24	223,7	196,43	0,108
idVEGF (pg/ml)	muško	11	37,52	46,36	39	45,51	56,61	0,799
	žensko	9	39,57	57,96	24	26,84	32,46	0,898

Legenda: G1A = Grupa 1A; G2 = Grupa 2; s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1

Vrednosti TGF- β 1 i VEGF-a u grupama bolesnika mlađih i starijih od 65 godina nemaju normalnu distribuciju ($CV > 30\%$), pa su prikazani rezultati testiranja razlika ovih parametara između grupa neparametrijskim testom (Tabela 16).

Kod bolesnika mlađih od 65 godina:

- koncentracija TGF- β 1 je veća u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja, i to u serumu blago, a u izlivenom dijalizatu statistički značajno ($p=0,040$),
- koncentracija VEGF-a je veća u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi na početku lečenja, i to u serumu statistički značajno ($p=0,015$), a u izlivenom dijalizatu blago, bez statističke značajnosti (Tabela 16).

Kod bolesnika starijih od 65 godina koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a se nisu statistički značajno razlikovale:

- koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 su veće u prevalentnoj nego u incidentnoj grupi na početku lečenja,
- koncentracija sVEGF-a je veća u prevalentnoj grupi u odnosu na incidentnu grupu na početku lečenja,
- koncentracija idVEGF-a je veća u incidentnoj grupi na početku lečenja u odnosu na prevalentnu grupu (Tabela 16).

Tabela 16. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika mlađih i starijih od 65 godina u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

	starost (god.)	Grupa 1A			Grupa 2			p G1A vs G2
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	≤65	13	27,62	18,11	39	30,87	14,21	0,190
	>65	7	25,34	14,59	24	27,9	12,95	0,479
idTGF- β 1 (ng/ml)	≤65	13	0,94	1,03	39	1,07	0,61	0,040*
	>65	7	0,84	0,33	24	0,91	0,4	0,798
sVEGF (pg/ml)	≤65	13	119,96	113,29	39	240,7	199,24	0,015*
	>65	7	203,86	110,12	24	217,45	124,88	0,869
idVEGF (pg/ml)	≤65	13	35,82	43,59	39	41,34	53,08	0,784
	>65	7	43,31	64,98	24	33,61	43,35	0,909

Legenda: god. = godine; G1A = grupa 1A; G2 = grupa 2; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; s= koncentracija u serumu; id= koncentracija u izlivenom dijalizatu; TGF- β 1 = transformišućeg faktora rasta

Vrednosti TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i izlivenom dijalizatu kod bolesnika sa i bez DM nemaju normalnu distribuciju (CV > 30%) i testirane su neparametrijskim testovima (Tabela 17).

Kod bolesnika bez DM:

- koncentracija sTGF- β 1 je statistički značajno manja u Grupi 1A nego u Grupi 2 (p=0,030),
- koncentracija idTGF- β 1 je blago veća Grupi 1A nego u Grupi 2,
- koncentracija sVEGF-a je blago manja u Grupi 1A nego u Grupi 2,
- koncentracija idVEGF-a je blago veća u Grupi 1A nego u Grupi 2 (Tabela 17).

Kod bolesnika sa DM:

- koncentracija sTGF- β 1 je blago veća u Grupi 1A nego u Grupi 2,
- koncentracija idTGF- β 1 je statistički značajno manja u Grupi 1A nego u Grupi 2 ($p=0,043$),
- koncentracija sVEGF-a je visoko statistički značajno manja u Grupi 1A nego u Grupi 2 ($p=0,006$),
- koncentracija idVEGF-a je blago manja u Grupi 1A nego u Grupi 2 (Tabela 17).

Tabela 17. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu u odnosu na prisustvo šećerne bolesti kod bolesnika u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A			Grupa 2			p G1A vs G2
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	bez DM	9	20,86	6,72	32	29,19	11,76	0,030*
	DM	11	31,69	20,73	31	30,3	15,66	0,711
idTGF- β 1 (ng/ml)	bez DM	9	1,13	1,23	32	0,93	0,43	0,554
	DM	11	0,72	0,22	31	1,09	0,64	0,043*
sVEGF (pg/ml)	bez DM	9	178,48	115,36	32	194,3	133,03	0,777
	DM	11	125,47	117,66	31	270,6	202,89	0,006**
idVEGF (pg/ml)	bez DM	9	37,15	57,58	32	31,97	44,52	0,667
	DM	11	39,49	46,73	31	45,03	53,87	0,872

Legenda: G1A = grupa 1A; G2 = grupa 2; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; s= koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; TGF- β 1 = transformišućeg faktora rasta; DM = diabetes mellitus

Koncentracija sVEGF-a je statistički značajno veća kod bolesnika na CAPD-u u prevalentnoj grupi u odnosu na incidentnu grupu na početku lečenja ($p=0,016$). Nisu dokazane druge statistički značajne razlike koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu među grupama u odnosu modalitet dijalize (Tabela 18).

Koncentracija sTGF- β 1 ($p=0,009$) je visoko statistički značajno veća u prevalentnoj grupi nego u incidentnoj grupi bolesnika koji nisu primali stimulatore eritropoeze. Nisu nađene druge statistički značajne razlike koncentracija faktora rasta u serumu i u izlivenom dijalizatu u ispitivanim grupama bolesnika koji su i koji nisu primali stimulatore eritropoeze (Tabela 19).

Tabela 18. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu u odnosu na modalitet dijalize kod bolesnika u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A			Grupa 2			p G1A vs G2
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	APD	2	15,43	1,52	6	27,35	16,68	0,317
	CAPD	12	24,73	11,8	53	30,53	13,69	0,086
	CCPD	6	34,8	24,53	4	22,76	9,14	0,394
idTGF- β 1 (ng/ml)	APD	2	0,65	0	6	1,56	0,89	0,088
	CAPD	12	1,02	1,07	53	0,95	0,47	0,309
	CCPD	6	0,75	0,24	4	0,93	0,57	0,648
sVEGF (pg/ml)	APD	2	190,95	247,98	6	320,55	182,89	0,505
	CAPD	12	118,12	93,56	53	221	177,55	0,016*
	CCPD	6	197,87	119,78	4	242,5	70,24	0,286
idVEGF (pg/ml)	APD	2	93,35	109,96	6	112,14	94,73	0,733
	CAPD	12	21,08	12,95	53	31,34	36,56	0,303
	CCPD	6	54,86	68,1	4	21,3	11,4	0,401

Legenda: G1A = grupa 1A; G2 = grupa 2; s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; APD = automatska peritoneumska dijaliza; CAPD = kontinuirana ambulatorna PD; CCPD = kontinuirana ciklična PD

Tabela 19. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu kod bolesnika koji su primali i koji nisu primali stimulatore eritropoeze u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A			Grupa 2			p
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	nisu primali ESA	8	22,58	9,43	22	35,41	13,23	0,009**
	primali ESA	12	29,65	19,94	41	26,69	13,13	0,782
idTGF- β 1 (ng/ml)	nisu primali ESA	8	0,74	0,26	22	0,98	0,57	0,278
	primali ESA	12	1,01	1,07	41	1,03	0,53	0,113
sVEGF (pg/ml)	nisu primali ESA	8	166,27	115,3	22	221,91	153,49	0,280
	primali ESA	12	138,03	121,33	41	237,17	185,55	0,056
idVEGF (pg/ml)	nisu primali ESA	8	42,56	61,21	22	45,68	59,82	0,550
	primali ESA	12	35,69	44,66	41	34,49	43,09	0,898

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; ESA = agensi koji stimuliraju eritropoezu

Bolesnici Grupe 1A koji su uzimali ACE inhibitore imali su visko statistički značajno manju koncentraciju sVEGF-a u odnosu na bolesnike Grupe 2 koji su uzimali terapiju ACE inhibitorima ($p=0,008$). Nisu nađene statistički značajne razlike

koncentracija drugih faktora rasta u serumu i u izlivenom dijalizatu kod bolesnika koji su uzimali ACE inhibitore i koji nisu uzimali terapiju ACE inhibitorima (Tabela 20).

Tabela 20. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu kod bolesnika koji su uzimali i koji nisu uzimali ACE inhibitore u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A			Grupa 2			p
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	ACE inh NE	2	22,62	8,65	17	33,59	15,6	0,352
	ACE inh DA	18	27,29	17,36	46	28,31	12,84	0,235
idTGF- β 1 (ng/ml)	ACE inh NE	2	0,65	0	17	0,93	0,54	0,392
	ACE inh DA	18	0,93	0,88	46	1,04	0,54	0,063
sVEGF (pg/ml)	ACE inh NE	2	266,29	141,44	17	214,22	210,3	0,465
	ACE inh DA	18	136,33	110,72	46	238,35	160,58	0,008**
idVEGF (pg/ml)	ACE inh NE	2	93,35	109,96	17	21,24	12,99	0,265
	ACE inh DA	18	32,34	41,73	46	44,73	56,1	0,404

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; inh = inhibitor

Nisu nađene statistički značajne razlike u koncentracijama faktora rasta u serumu i u izlivenom dijalizatu u ispitivanim grupama bolesnika u odnosu na terapiju statinima (Tabela 21).

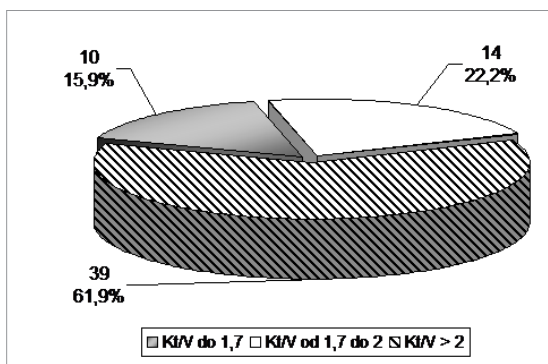
Tabela 21. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu kod bolesnika koji su uzimali i koji nisu uzimali statine u incidentnoj grupi na početku hroničnog programa PD (Grupa 1A) i u prevalentnoj grupi (Grupa 2)

		Grupa 1A			Grupa 2			p
		N	prosek	SD	N	prosek	SD	
sTGF- β 1 (ng/ml)	nisu uzimali statine	14	26,27	12,32	46	30,42	12,4	0,154
	uzimali statine	6	28,11	25,49	17	27,9	17,07	0,624
idTGF- β 1 (ng/ml)	nisu uzimali statine	14	1,01	0,99	46	1,03	0,5	0,178
	uzimali statine	6	0,65	0	17	0,95	0,66	0,146
sVEGF (pg/ml)	nisu uzimali statine	14	157,33	108,5	46	217,71	160,24	0,102
	uzimali statine	6	130,65	143,2	17	270,07	207,02	0,140
idVEGF (pg/ml)	nisu uzimali statine	14	37,12	46,54	46	30,22	34,16	0,731
	uzimali statine	6	41,52	63,48	17	60,5	73,86	0,365

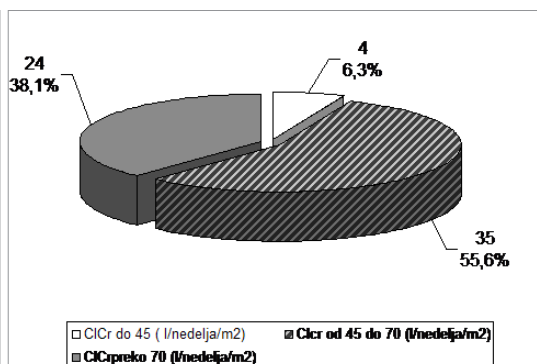
Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1

4.2.2 Kvalitet peritoneumske dijalize i rezidualna funkcija bubrega kod bolesnika prevalentne grupe

U prevalentnoj grupi je ukupni nedeljni Kt/V do 1,7 imalo 10 (15,9%) bolesnika, visoko statistički značajno manje od 53 (84,1%) bolesnika koji su imali Kt/V >1,7 ($p=0,0001$). Vrednosti Kt/V između 1,7 i 2 imalo je 14 (22,2%) bolesnika. Ukupni nedeljni Kt/V do 2 imalo je 24 (38,1%) bolesnika, a Kt/V >2 imalo je 39 (61,9%) bolesnika (Grafikon 7).



Grafikon 7. Distribucija bolesnika prevalentne grupe prema intervalima Kt/V

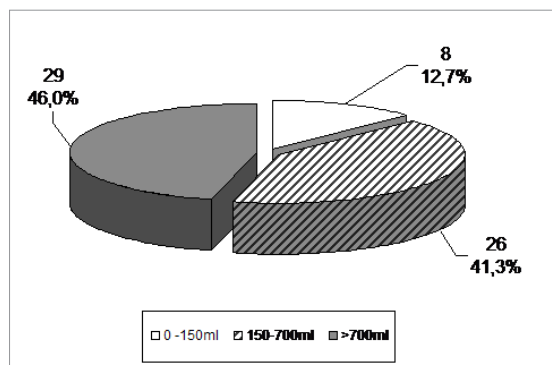


Grafikon 8. Distribucija bolesnika prevalentne grupe prema intervalima CrCl

U prevalentnoj grupi 4 (6,3%) bolesnika su imala ukupni nedeljni CrCl do 45 l dok je statistički značajno više bolesnika od 59 (93,7%) koji su imali CrCl preko 45 l ($p=0,0001$). Ukupni nedeljni CrCl između 45 i 70 l imalo je 35 (55,6%) bolesnika. Ako se posmatra interval do i preko 70 l nedeljno, 39 (61,9%) bolesnika je imalo ukupni nedeljni CrCl do 70 l nedeljno, dok je 24 (38,1%) bolesnika imalo CrCl preko 70 l nedeljno (Grafikon 8).

U prevalentnoj grupi je bilo najmanje anuričnih bolesnika, 5 (7,9%), što je visoko statistički značajno manje ($p=0,0001$) od bolesnika koji su imali rezidualnu diurezu (RD), 58 (92,1%).

U prevalentnoj grupi među bolesnicima sa RD statistički značajno manje, 8 (12,7%) bolesnika ima RD < 150 ml/dan. Znatno više, 55 (87,3%) bolesnika ima RD > 150 ml/dan ($p=0,0001$). U prevalentnoj grupi je bilo 34 (54%) bolesnika sa RD < 700 ml/dan, dok je nešto veći broj, odnosno 29 (46%) bolesnika, imalo RD > 700 ml/dan. Ova razlika nije bila statistički značajna ($p=0,529$) (Grafikon 9).



Grafikon 9. Distribucija bolesnika prevalentne grupe prema obimu rezidualne diureze (RD)

4.2.3 Koncentracije faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

Nešto veće koncentracije TGF- β 1 u serumu imale su osobe ženskog pola od muškaraca, bolesnici mlađi od 65 godina od bolesnika starijih od 65 godina, dijabetičari od bolesnika bez DM, bolesnici na CAPD-u u odnosu na druge modalitete dijalize. Ove razlike nisu bile statistički značajne.

Tabela 22. Koncentracije TGF- β 1 u serumu bolesnika prevalentne grupe prema polu, starosti, modalitetu dijalize, osnovnom oboljenju i lečenju

		N	TGF- β 1 u serumu (ng/ml)		
			prosek \pm SD	med.	p
pol	m	39	27,71 \pm 12,52	24,29	0,209
	ž	24	33,04 \pm 15,15	32,54	
starost (god.)	\leq 65	39	30,87 \pm 14,21	26,1	0,873
	> 65	24	27,90 \pm 12,95	23,62	
modalitet dijalize	APD	6	27,35 \pm 16,68	19,98	ns
	CAPD	53	30,53 \pm 13,69	26,9	
	CCPD	4	22,76 \pm 9,14	19,71	
DM	ne	32	29,19 \pm 11,76	26,5	0,23
	da	31	30,30 \pm 15,66	24,29	
peritonitis	ne	35	31,61 \pm 15,25	26,90	0,657
	da	28	27,40 \pm 11,34	25,25	
ESA	ne	22	35,41 \pm 13,23	33,45	p=0,004**
	da	41	26,69 \pm 13,13	22,11	
ACE inh	ne	17	33,59 \pm 15,6	29,37	0,305
	da	46	28,31 \pm 12,84	25,19	
statini	ne	46	30,42 \pm 12,4	29,03	0,436
	da	17	27,9 \pm 17,07	20,6	

Legenda: TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; m = muškarci; ž = žene; god. = godine; APD = automatska peritoneumska dijaliza; CAPD = kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza; CCPD = kontinuirana ciklična peritoneumska dijaliza; DM = *diabetes mellitus*; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE inh = inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima

Peritonitis nije uticao na koncentraciju TGF- β 1 u serumu, čak su bolesnici koji nisu preležali peritonitis imali blago veće koncentracije ovog faktora rasta.

Koncentracija TGF- β 1 u serumu je visoko statistički značajno manja ($p=0,004$) u bolesnika prevalentne grupe koji su primali terapiju stimulatorima eritropoeze.

Koncentracija TGF- β 1 u serumu je blago manja kod bolesnika prevalentne grupe koji su lečeni ACE inhibitorima i statinima, bez statističke značajnosti (Tabela 22).

Nešto veće koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu imale su osobe ženskog pola od muškaraca, bolesnici stariji od 65 godina od bolesnika mlađih od 65 godina, dijabetičari u odnosu na ostale bolesnike, bolesnici na APD-u u odnosu na druge modalitete dijalize. Ove razlike nisu bile statistički značajne.

Peritonitis nije uticao na koncentraciju TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu. Bolesnici koji nisu preležali peritonitis su imali blago manje koncentracije ovog faktora rasta.

Tabela 23. Koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe prema polu, starosti, modalitetu dijalize, osnovnom oboljenju i lečenju

		N	TGF- β 1 u dijalizatu (ng/ml)		
			prosek \pm SD	med.	p
pol	m	39	0,97 \pm 0,54	0,65	0,372
	ž	24	1,08 \pm 0,55	0,65	
starost (god.)	\leq 65	39	1,07 \pm 0,61	0,65	0,84
	> 65	24	0,91 \pm 0,4	0,65	
modalitet dijalize	APD	6	1,56 \pm 0,89	1,33	ns
	CAPD	53	0,95 \pm 0,47	0,65	
	CCPD	4	0,93 \pm 0,57	0,65	
DM	ne	32	0,93 \pm 0,43	0,65	0,751
	da	31	1,09 \pm 0,64	0,65	
peritonitis	ne	35	1,08 \pm 0,61	0,65	0,751
	da	28	0,92 \pm 0,43	0,65	
ESA	ne	22	1,03 \pm 0,53	0,65	0,533
	da	41	0,98 \pm 0,57	0,65	
ACE inh	ne	17	1,04 \pm 0,54	0,65	0,691
	da	46	0,93 \pm 0,54	0,65	
statini	ne	46	1,03 \pm 0,5	0,65	0,654
	da	17	0,95 \pm 0,66	0,65	

Legenda: TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; m = muškarci; ž = žene; god.= godine; APD= automatska peritoneumska dijaliza; CAPD= kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza; CCPD = kontinuirana ciklična peritoneumska dijaliza; DM = *diabetes mellitus*; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE inh = inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima

Koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu je manja u prevalentnoj grupi kod bolesnika koji su dobijali terapiju stimulatorima eritropoeze, ACE inhibitorima i statinima u odnosu na ostale, ali razlika nije bila statistički značajna (Tabela 23).

Nešto veće koncentracije sVEGF-a imali su bolesnici muškog pola od žena, bolesnici mlađi od 65 godina od bolesnika starijih od 65 godina, dijabetičari u odnosu na ostale bolesnike, bolesnici lečeni CCPD-om u odnosu na druge modalitete dijalize, ali bez statističke značajnosti.

Peritonitis nije uticao na koncentraciju sVEGF-a. Bolesnici koji nisu preležali peritonitis imali su blago veće koncentracije ovog faktora rasta u serumu.

Bolesnici koji su primali ESA, ACE inhibitore i statine imali su manju koncentraciju sVEGF u odnosu na ostale, ali razlika nije bila statistički značajna (Tabela 24).

Tabela 24. Koncentracije VEGF-a u serumu bolesnika prevalentne grupe prema polu, starosti, modalitetu dijalize, osnovnom obolenju i lečenju

		N	VEGF u serumu (pg/ml)		
			prosek \pm SD	med.	p
pol	m	39	236,85 \pm 161,02	214,72	0,804
	ž	24	223,70 \pm 196,43	223,41	
starost (god.)	\leq 65	39	240,70 \pm 199,24	208,50	0,980
	> 65	24	217,45 \pm 124,88	222,45	
modalitet dijalize	APD	6	30,22 \pm 34,16	15,60	ns
	CAPD	53	60,50 \pm 73,86	15,60	
	CCPD	4	242,50 \pm 70,24	218,73	
DM	ne	32	194,30 \pm 133,03	195,35	0,112
	da	31	270,60 \pm 202,89	223,80	
peritonitis	ne	35	254,91 \pm 199,04	217,31	0,705
	da	28	203,01 \pm 134,21	208,50	
ESA	da	41	221,91 \pm 153,49	223,80	0,948
	ne	22	237,17 \pm 185,55	208,50	
ACE inh	da	46	214,22 \pm 210,30	197,20	0,410
	ne	17	238,35 \pm 160,58	216,67	
statini	da	17	217,71 \pm 160,24	216,67	0,256
	ne	46	270,07 \pm 207,02	198,84	

Legenda: VEGF = vaskularni endotelni faktor rasta; m = muškarci; ž = žene; god.= godine; APD = automatska peritoneumska dijaliza; CAPD = kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza; CCPD = kontinuirana ciklična peritoneumska dijaliza; DM = *diabetes mellitus*; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE inh = inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima

Nešto veće koncentracije idVEGF-a imali su bolesnici muškog pola od žena, bolesnici mlađi od 65 godina od bolesnika starijih od 65 godina, dijabetičari u odnosu na ostale bolesnike, bolesnici lečeni APD-om u odnosu na druge modalitete dijalize, ali bez statističke značajnosti.

Peritonitis nije uticao na koncentraciju idVEGF-a. Bolesnici koji nisu preležali peritonitis imali su blago veće koncentracije ovog faktora rasta u izlivenom dijalizatu.

Bolesnici koji su primali ESA imali su nešto veću koncentraciju idVEGF-a u odnosu na ostale, ali razlika nije bila statistički značajna.

Bolesnici koji su uzimali ACE-inhibitore i statine imali su nešto manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu u odnosu na ostale, ali razlika nije bila statistički značajna (Tabela 25).

Tabela 25. Koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe prema polu, starosti, modalitetu dijalize, osnovnom obolenju i lečenju

		N	VEGF u dijalizatu (pg/ml)		
			prosek±SD	med.	p
pol	m	39	45,51±56,61	15,60	0,481
	ž	24	26,84±32,46	15,60	
starost (god.)	≤ 65	39	41,34±53,08	15,60	0,960
	> 65	24	33,61±43,35	15,60	
modalitet dijalize	APD	6	112,14±94,73	110,31	ns
	CAPD	53	31,34±36,56	15,60	
	CCPD	4	21,30±11,40	15,60	
DM	ne	32	31,97±44,52	15,60	0,564
	da	31	45,03±53,87	15,60	
peritonitis	ne	35	45,27±59,01	15,60	0,837
	da	28	29,80±32,81	15,60	
ESA	da	41	45,68±59,82	15,60	0,4213
	ne	22	34,49±43,09	15,60	
ACE inh	da	46	21,24±12,99	15,60	0,616
	ne	17	44,73±56,10	15,60	
statini	da	17	30,22±34,16	15,60	0,751
	ne	46	60,50±73,86	15,60	

Legenda: VEGF = vaskularni endotelni faktor rasta; m = muškarci; ž = žene; god.= godine; APD= automatska peritoneumska dijaliza; CAPD= kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza; CCPD = kontinuirana ciklična peritoneumska dijaliza; DM = *diabetes mellitus*; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE inh = inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima

4.2.4 Korelacije parametara adekvatnosti peritoneumske dijalize i koncentracija faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

Kod bolesnika prevalentne grupe:

- koncentracije idTGF- β 1 i idVEGF-a direktno statistički značajno koreliraju ($R=0,288$, $p=0,022$) (Tabela 26, Grafikon 10),
- koncentracije sVEGF-a i idVEGF-a direktno statistički visoko značajno koreliraju ($R=0,378$, $p=0,002$) (Tabela 26, Grafikon 11),
- ukupni nedeljni Kt/V direktno statistički visoko značajno korelira sa peritoneumskim nedeljnim Kt/V ($R=0,754$, $p<0,0001$) i sa rezidualnim nedeljnim Kt/V ($R=0,492$, $p<0,0001$) (Tabela 26).

Tabela 26. Korelacija Kt/V i nPCR i TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	uk. ned. Kt/V	per. ned. Kt/V	rez. ned. Kt/V	nPCR (g/kgTT/ dan)
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	1,000	0,089	0,041	-0,057	0,029	0,106	-0,094	0,122
	sign.		0,488	0,748	0,659	0,823	0,409	0,462	0,339
	N	63	63	63	63	63	63	63	63
idTGF- β 1 (ng/ml)	R		1,000	0,011	0,288	-0,161	0,003	-0,238	0,007
	sign.			0,929	0,022*	0,209	0,981	0,060	0,957
	N		63	63	63	63	63	63	63
sVEGF (pg/ml)	R			1,000	0,378	-0,030	0,082	-0,151	0,085
	sign.				0,002**	0,813	0,525	0,239	0,507
	N			63	63	63	63	63	63
idVEGF (pg/ml)	R				1,000	-0,108	0,023	-0,189	0,016
	sign.					0,401	0,859	0,137	0,898
	N				63	63	63	63	63
uk. ned. Kt/V	R					1,000	0,754	0,492	0,202
	sign.						0,000***	0,000***	0,113
	N					63	63	63	63
per. ned. Kt/V	R						1,000	-0,201	0,206
	sign.							0,114	0,105
	N						63	63	63
rez. ned. Kt/V	R							1,000	0,028
	sign.								0,829
	N							63	63
nPCR (g/kgTT/ dan)	R								1,000
	sign.								
	N								63

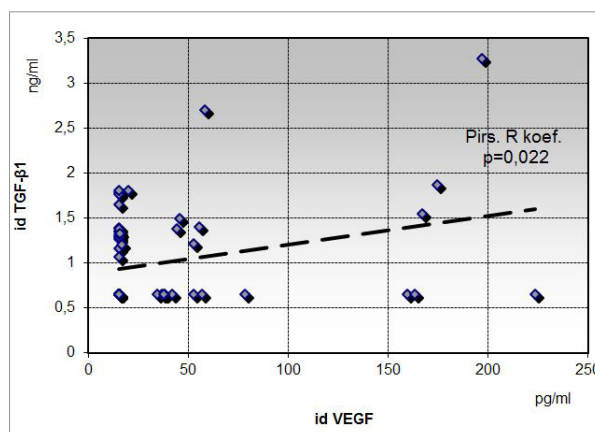
Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; uk. ned. = ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; nPCR = normalizovana jačina katabolizma belančevina; R = koeficijent korelacije; sign.: signifikantnost

Korelacija idTGF- β 1 sa rezidualnim nedeljnim Kt/V je obrnuta, na granici značajnosti.

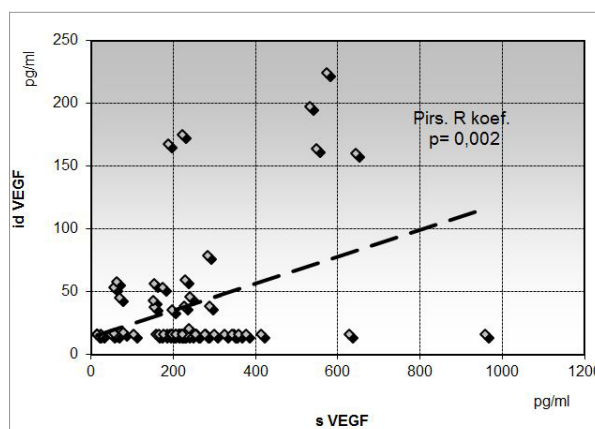
Kod bolesnika prevalentne grupe nisu nađene statistički značajne korelacije između:

- koncentracija VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu i ukupnog nedeljnog, peritoneumskog nedeljnog, ni rezidualnog nedeljnog Kt/V,
- normalizovane jačine katabolizma belančevina i koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, i Kt/V (Tabela 26),
- koncentracija sTGF- β 1 i sVEGF-a (Tabela 26),
- koncentracija sTGF- β 1 i idTGF- β 1 (Tabela 26).

Grafikon 10. Korelacija koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe



Grafikon 11. Korelacija koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe



Kod bolesnika prevalentne grupe nisu nađene statistički značajne korelacije između:

- koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 i vrednosti ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 1,7 i ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 2 (Tabela 27),
- koncentracije sVEGF-a i idVEGF-a i vrednosti ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 1,7 i ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 2 (Tabela 27).

Tabela 27. Korelacija intervalne distribucije Kt/V i koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	uk. nedeljni KT/V >1,7<	uk. nedeljni KT/V >2<
uk. nedeljni KT/V >1,7<	R	-0,025	0,019	-0,088	-0,185	1,000	0,554
	sign.	0,845	0,883	0,491	0,146		0,000***
	N	63	63	63	63	63	63
uk. nedeljni KT/V >2<	R	-0,071	0,017	-0,018	-0,133	0,554	1,000
	sign.	0,580	0,893	0,889	0,299	0,000***	
	N	63	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; uk. ned. Kt/V = ukupni nedeljni Kt/V

Koncentracija sTGF- β 1 obrnuto statistički značajno korelira sa vrednostima ukupnog nedeljnog ClCr (R=-0,321, p=0,010) (Tabela 28, Grafikon 12). Koncentracije idTGF- β 1 ne koreliraju statistički značajno ni sa jednim parametrom ClCr (Tabela 28).

Koncentracije sVEGF-a i idVEGF-a ne koreliraju statistički značajno ni sa jednim parametrom ClCr (Tabela 28).

Ukupni nedeljni ClCr direktno statistički visoko značajno korelira sa vrednostima peritoneumskog (R=0,780, p<0,0001) i rezidualnog nedeljnog ClCr (R=0,806, p<0,0001). Peritoneumski nedeljni klirens kreatinina i rezidualni nedeljni ClCr ne koreliraju statistički značajno (Tabela 28).

Koncentracije sTGF β -1 obrnuto statistički značajno koreliraju sa vrednostima ukupnog nedeljnog ClCr do 70 l/nedeljno/m² (R=-0,274, p=0,030) (Tabela 28, Grafikon 13). Koncentracije sTGF β -1 ne koreliraju statistički značajno sa vrednostima ukupnog nedeljnog ClCr preko 70 l/nedeljno/m² (Tabela 28).

Koncentracije sTGF- β 1 su u obrnutim korelacijama sa vrednostima ukupnog nedeljnog ClCr do i preko 45 l/nedeljno/m², bez statističke značajnosti (Tabela 28).

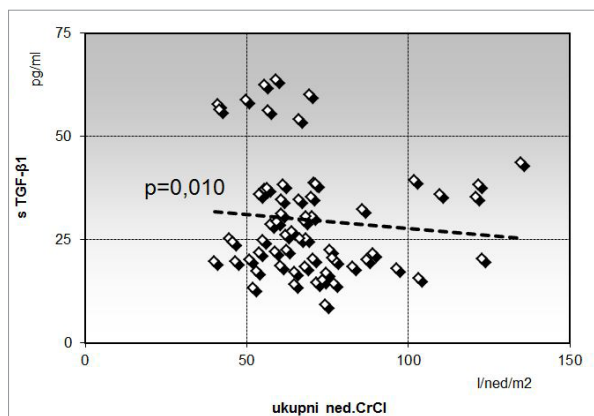
Koncentracije idTGF- β 1 direktno koreliraju sa vrednostima ukupnog nedeljnog ClCr do i preko 45 l/nedeljno/m² i obrnuto koreliraju sa vrednostima ukupnog nedeljnog ClCr do i preko 70 l/nedeljno/m², bez statističke značajnosti (Tabela 28).

Koncentracija sVEGF-a i idVEGF-a ne korelira statistički značajno sa vrednostima ClCr u različitim intervalnim grupama (Tabela 28).

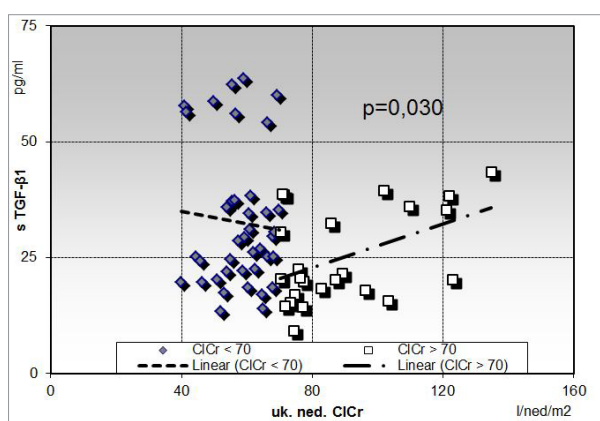
Tabela 28. Korelacija ClCr i koncentracije TGF-β1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

		uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)	uk. ned. ClCr >45< (l/ned/m ²)	uk. ned. ClCr >70< (l/ned/m ²)
sTGF-β1 (ng/ml)	R	-0,101	-0,321	-0,162	-0,192	-0,274
	sign.	0,433	0,010*	0,206	0,132	0,030*
	N	63	63	63	63	63
idTGF-β1 (ng/ml)	R	-0,163	-0,104	-0,167	0,003	-0,097
	sign.	0,203	0,417	0,192	0,984	0,449
	N	63	63	63	63	63
sVEGF (pg/ml)	R	-0,014	-0,092	-0,059	0,108	-0,150
	sign.	0,914	0,474	0,649	0,402	0,240
	N	63	63	63	63	63
idVEGF (pg/ml)	R	0,038	-0,048	-0,057	0,093	-0,066
	sign.	0,769	0,706	0,657	0,470	0,607
	N	63	63	63	63	63
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	1,000	0,780	0,806	0,357	0,742
	sign.		0,000***	0,000***	0,004**	0,000***
	N	63	63	63	63	63
per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	0,780	1,000	0,714	0,543	0,838
	sign.	0,000***		0,000***	0,000***	0,000***
	N	63	63	63	63	63
rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	0,806	0,714	1,000	0,341	0,673
	sign.	0,000***	0,000***		0,006**	0,000***
	N	63	63	63	63	63
uk. ned. ClCr >45< (l/ned/m ²)	R	0,357	0,543	0,341	1,000	0,204
	sign.	0,004**	0,000***	0,006**		0,108
	N	63	63	63	63	63
uk. ned. ClCr >70< (l/ned/m ²)	R	0,742	0,838	0,673	0,204	1,000
	sign.	0,000***	0,000***	0,000***	0,108	
	N	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF-β1 = transformišući faktor rasta β1; uk. ned. ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina



Grafikon 12. Korelacija ukupnog nedeljnog CrCl i koncentracije TGF-β1 u serumu bolesnika prevalentne grupe



Grafikon 13. Korelacija koncentracije TGF-β1 u serumu prevalentnih bolesnika sa ukupnim nedeljnim CrCl manjim i većim od 70 l/nedeljno/m²

Koncentracije TGF-β1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu nisu u statistički značajnoj korelaciji sa RD, niti sa RRF (Tabela 29).

Vrednosti RD direktno statistički značajno koreliraju sa vrednostima RRF, (R=0,794, p<0,0001) (Tabela 29).

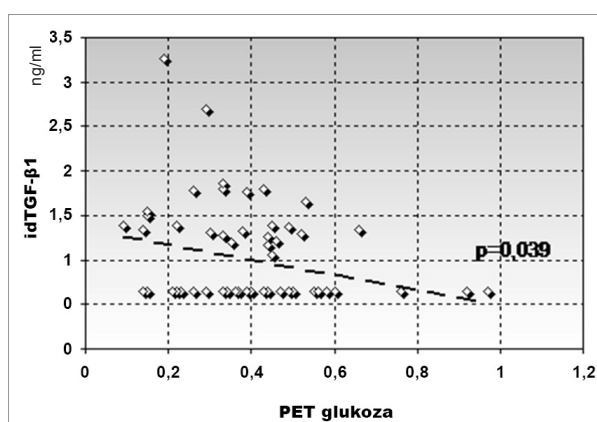
Koncentracija TGF-β1 u izlivenom dijalizatu:

- statistički značajno obrnuto korelira sa vrednostima testa peritoneumskog ekvilibrijuma glukoze (R=-0,261, p=0,039) (Tabela 29, Grafikon 14),
- ne korelira statistički značajno sa vrednostima testa peritoneumskog ekvilibrijuma kreatinina (Tabela 29).

Tabela 29. Korelacija rezidualne diureze, rezidualnog klirensa kreatinina i transportnog statusa trbušne maramice sa koncentracijom TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

		RD (ml/dan)	RRF (ml/min)	PET glukoze	PET kreatinina
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	-0,154	-0,160	0,048	0,005
	sign.	0,228	0,210	0,709	0,969
	N	63	63	63	63
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	-0,125	-0,187	-0,261	0,150
	sign.	0,329	0,143	0,039*	0,241
	N	63	63	63	63
sVEGF (pg/ml)	R	-0,168	-0,190	0,040	0,147
	sign.	0,187	0,136	0,756	0,249
	N	63	63	63	63
idVEGF (pg/ml)	R	-0,150	-0,135	0,003	0,230
	sign.	0,242	0,291	0,982	0,069
	N	63	63	63	63
RD (ml/dan)	R	1,000	0,794	0,167	-0,159
	sign.		0,000***	0,192	0,213
	N	63	63	63	63
RRF (ml/min)	R	0,794	1,000	0,293	-0,326
	sign.	0,000***		0,020*	0,009**
	N	63	63	63	63
PETglukoze	R	0,167	0,293	1,000	-0,542
	sign.	0,192	0,020*		0,000***
	N	63	63	63	63
PETkreatinina	R	-0,159	-0,326	-0,542	1,000
	sign.	0,213	0,009**	0,000***	
	N	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; RD = rezidualna diureza; RRF = rezidualna renalna funkcija (*residual renal function*); PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma (*peritoneal equilibration test*)



Grafikon 14. Korelacija PETglukoze i koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

Koncentracija TGF- β 1 u serumu nije u statistički značajnoj korelaciji sa vrednostima PETglukoze i PETkreatinina (Tabela 29).

Koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu nisu u statistički značajnoj korelaciji sa transportnim statusom glukoze i kreatinina (Tabela 29).

Vrednosti testa peritoneumskog ekvilibrijuma glukoze obrnuto statistički visoko značajno koreliraju sa vrednostima testa peritoneumskog ekvilibrijuma kreatinina ($R=-0,542$, $p<0,0001$) (Tabela 29).

Rezidualna funkcija bubrega direktno statistički značajno korelira sa PETglukoze ($R=0,293$, $p=0,020$), a obrnuto statistički značajno korelira sa PETkreatinina ($R=-0,326$, $p=0,009$) (Tabela 29).

4.2.5 Uticaj primenjenog lečenja na koncentracije faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

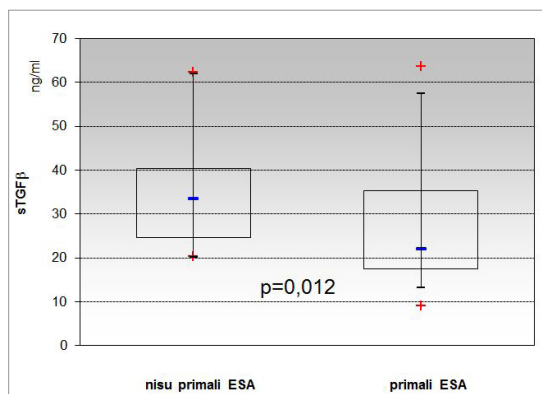
Bolesnici prevalentne grupe koji su lečeni ESA preparatima imali su značajno manje koncentracije sTGF- β 1 nego bolesnici koji nisu primali ove lekove ($R=-0,306$, $p=0,015$) (Tabela 30, Grafikon 15).

Bolesnici prevalentne grupe koji su lečeni ACE inhibitorima imali su manje koncentracije idVEGF-a od bolesnika koji nisu uzimali ove lekove, na granici statističke značajnosti ($R= -0,223$, $p=0,054$) (Tabela 30).

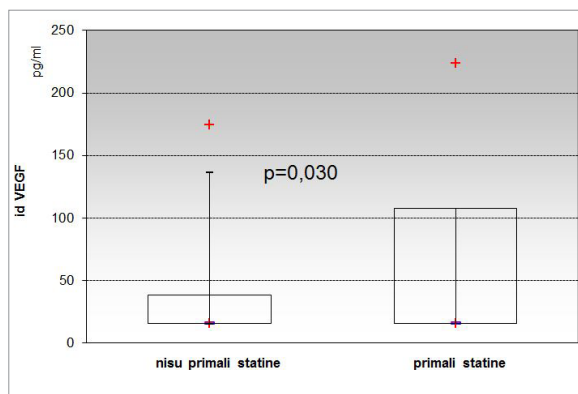
Tabela 30. Korelacija koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i primenjenog lečenja kod bolesnika prevalentne grupe

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	ESA	ACE inhibitori	statini
ESA	R	-0,306	0,043	0,042	-0,109	1,000	0,005	-0,005
	sign.	0,015*	0,741	0,743	0,395		0,970	0,970
	N	63	63	63	63	63	63	63
ACE inhibitori	R	-0,172	0,091	0,062	-0,223	0,005	1,000	0,047
	sign.	0,177	0,479	0,629	0,054	0,970		0,713
	N	63	63	63	63	63	63	63
statini	R	-0,082	-0,064	0,135	-0,274	-0,005	0,047	1,000
	sign.	0,523	0,617	0,293	0,030*	0,970	0,713	
	N	63	63	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; ESA = stimulatori eritropoeze; ACEinhibitori = inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima



Grafikon 15. Korelacija koncentracije TGF- β 1 u serumu kod bolesnika prevalentne grupe koji su primali i koji nisu primali ESA



Grafikon 16. Korelacija koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu kod bolesnika prevalentne grupe koji su primali i koji nisu primali statine

Bolesnici prevalentne grupe koji su dobijali statine imali su značajno manje koncentracije idVEGF-a nego bolesnici koji nisu uzimali ove lekove ($R = -0,274$, $p = 0,030$) (Tabela 30, Grafikon16).

Nije dokazana statistički značajna korelacija između koncentracija ispitivanih faktora rasta u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe i opterećenja glukozom iz dijaliznog rastvora (Tabela 31).

Nije dokazana statistički značajna korelacija između koncentracija ispitivanih faktora rasta u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe i dužine dijaliznog staža (Tabela 31).

Tabela 31. Korelacija koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i opterećenja glukozom iz dijalizne tečnosti i dužine dijaliznog staža u prevalentnoj grupi bolesnika

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	opterećenje glukozom (g/dan)	dužina dijaliznog staža (meseci)
opterećenje glukozom (g/dan)	R	0,131	-0,073	0,087	0,036	1,000	-0,012
	sign.	0,306	0,570	0,496	0,780		0,925
	N	63	63	63	63	63	63
dužina dijaliznog staža (meseci)	R	0,130	-0,021	0,138	-0,025	-0,012	1,000
	sign.	0,309	0,873	0,280	0,844	0,925	
	N	63	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1

Bolesnici prevalentne grupe koji se dijaliziraju duže od 5 godina imali su statistički značajno veće koncentracije VEGF-a u serumu ($p < 0,05$) (Tabela 32).

Tabela 32. Prosečna koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu u odnosu na dužinu dijaliznog staža do pet i više godina bolesnika prevalentne grupe

	d.d.s. (godine)	N	prosek \pm SD	med.	p
sTGF- β 1 (ng/ml)	< 5	55	29,30 \pm 13,23	25,26	ns
	> 5	8	32,68 \pm 17,40	30,41	
idTGF- β 1 (ng/ml)	< 5	55	1,00 \pm 0,56	0,65	ns
	> 5	8	1,07 \pm 0,48	0,93	
sVEGF (pg/ml)	< 5	55	223,85 \pm 151,52	216,02	< 0,05*
	> 5	8	286,77 \pm 294,67	226,41	
idVEGF (pg/ml)	< 5	55	40,01 \pm 52,38	15,6	ns
	> 5	8	27,31 \pm 16,43	15,6	

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; d.d.s. = dužina dijaliznog staža

4.2.6 Korelacije biohemijskih nalaza i koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u dijalizatu bolesnika prevalentne grupe

Analizirane su korelacije koncentracija faktora rasta u serumu i u izlivenom dijalizatu i parametara krvne slike i feremije (Tabela 33), pokazatelja zapaljenja (Tabela 34) i serumskih koncentracija holesterola, triglicerida, uree, glukoze, ukupnih proteina i parathormona (Tabela 35).

Tabela 33. Korelacija koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i parametara krvne slike i feremije bolesnika prevalentne grupe

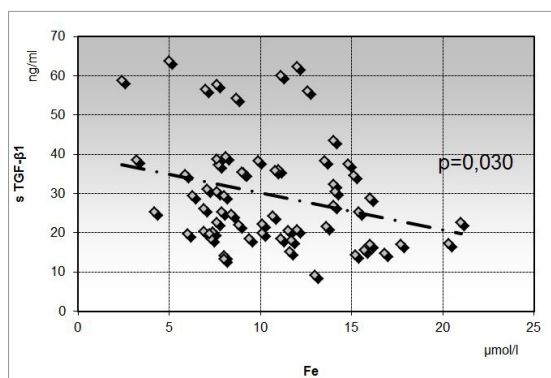
		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	HB (g/l)	HTC	Fe (μ mol/l)	feritin (mmol/l)	SAT (%)
HB (g/l)	R	-0,082	-0,169	-0,013	0,028	1,000	0,896	0,235	-0,100	0,294
	sign.	0,522	0,185	0,922	0,826		0,000***	0,064	0,434	0,019*
	N	63	63	63	63	63	63	63	63	63
HTC	R	-0,028	-0,201	0,015	0,062	0,896	1,000	0,208	-0,133	0,317
	sign.	0,827	0,115	0,906	0,632	0,000***		0,102	0,297	0,011*
	N	63	63	63	63	63	63	63	63	63
Fe (μ mol/l)	R	-0,273	-0,148	0,088	-0,038	0,235	0,208	1,000	0,028	0,722
	sign.	0,030*	0,246	0,492	0,766	0,064	0,102		0,830	0,000***
	N	63	63	63	63	63	63	63	63	63
feritin (mmol/l)	R	0,012	-0,232	0,023	-0,153	-0,100	-0,133	0,028	1,000	0,037
	sign.	0,925	0,068	0,855	0,231	0,434	0,297	0,830		0,774
	N	63	63	63	63	63	63	63	63	63
SAT (%)	R	-0,221	-0,168	0,272	0,042	0,294	0,317	0,722	0,037	1,000
	sign.	0,081	0,189	0,031*	0,742	0,019*	0,011*	0,000***	0,774	
	N	63	63	63	63	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; HB = hemoglobin; HTC = hematokrit; Fe = feremija; SAT = saturacija transferina

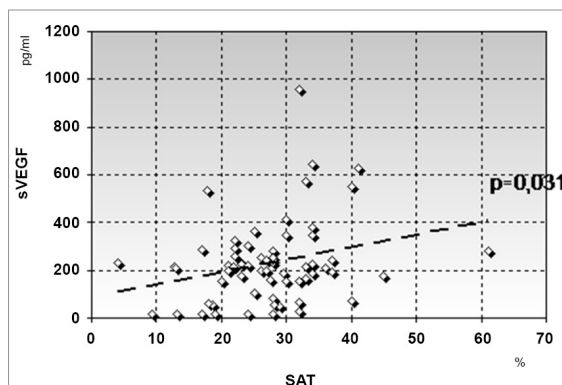
Koncentracija sTGF- β 1 statistički značajno obrnuto korelira sa feremijom ($R = -0,273$, $p = 0,030$) (Tabela 33, Grafikon 17).

Koncentracija sVEGF je u statistički značajnoj korelaciji sa SAT-om ($R = 0,272$, $p = 0,031$) (Tabela 33, Grafikon 18).

Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom ne koreliraju značajno sa ostalim ispitanim parametrima (Tabela 33).



Grafikon 17. Korelacija koncentracija TGF- β 1 u serumu i feremije bolesnika prevalentne grupe



Grafikon 18. Korelacija koncentracija VEGF-a u serumu i SAT bolesnika prevalentne grupe

Koncentracija sVEGF-a direktno korelira statistički značajno sa koncentracijom fibrinogena u serumu ($R = 0,237$, $p = 0,034$) (Tabela 34, Grafikon 19).

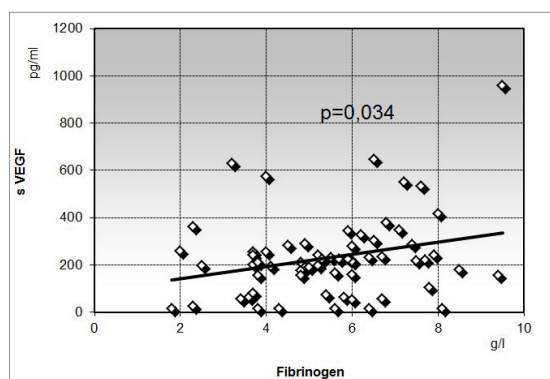
Koncentracije idVEGF-a ne koreliraju značajno sa koncentracijom fibrinogena, CRP-a i albumina u serumu (Tabela 34).

Koncentracije TGF- β 1 i u izlivenom dijalizatu ne koreliraju značajno sa koncentracijom fibrinogena, CRP-a i albumina u serumu (Tabela 34).

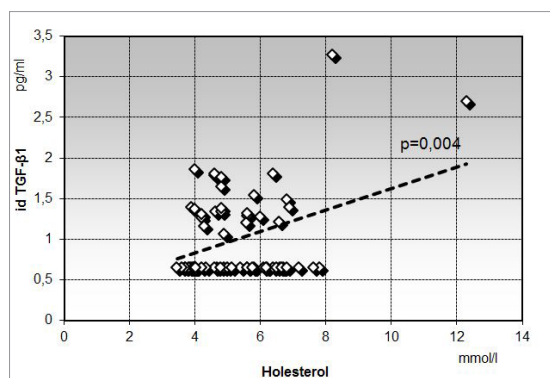
Tabela 34. Korelacija koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i koncentracija fibrinogena, CRP-a i albumina u serumu bolesnika prevalentne grupe

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	fibrinogen (g/l)	CRP (IU/l)	albumini (g/l)
fibrinogen (g/l)	R	0,096	-0,051	0,267	0,086	1,000	0,520	-0,235
	sign.	0,453	0,693	0,034*	0,503		0,000***	0,064
	N	63	63	63	63	63	63	63
CRP (IU/l)	R	0,132	-0,113	0,022	-0,173	0,520	1,000	-0,300
	sign.	0,301	0,376	0,862	0,175	0,000***		0,017*
	N	63	63	63	63	63	63	63
albumini (g/l)	R	-0,092	-0,052	0,052	0,124	-0,235	-0,300	1,000
	sign.	0,475	0,685	0,685	0,333	0,064	0,017*	
	N	63	63	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; CRP = c reaktivni protein



Grafikon 19. Korelacija koncentracija VEGF-a i fibrinogena u serumu bolesnika prevalentne grupe



Grafikon 20. Korelacija koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu i holesterolemije bolesnika prevalentne grupe

Koncentracija sTGF- β 1 ne korelira značajno koncentracijom holesterola, triglicerida, uree, glukoze, ukupnih proteina ni parathormona u serumu (Tabela 35).

Koncentracija idTGF- β 1 direktno korelira visoko statistički značajno sa holesterolemijom ($R=0,361$, $p=0,004$) (Tabela 35, Grafikon 20).

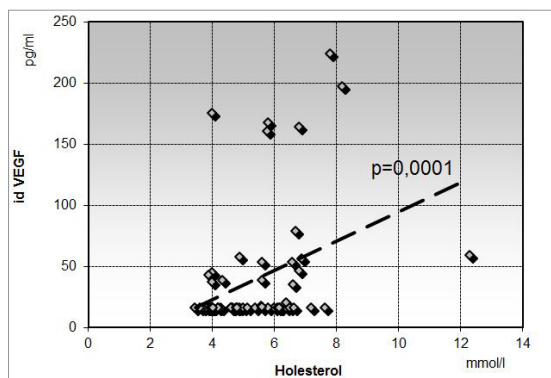
Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu direktno korelira visoko statistički značajno sa holesterolemijom ($R=0,360$, $p=0,004$) (Tabela 35, Grafikon 21).

Koncentracija sVEGF-a direktno korelira visoko statistički značajno sa glikemijom ($R=0,362$, $p=0,004$) (Tabela 35, Grafikon 22).

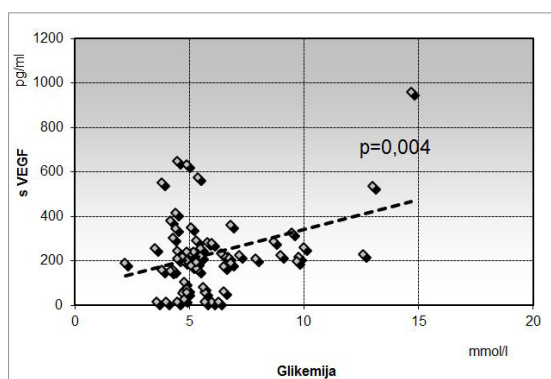
Tabela 35. Korelacija koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i koncentracija holesterola, triglicerida, uree, glikemije, ukupne proteinemije i nivoa PTH u serumu bolesnika prevalentne grupe

		holesterol (mmol/l)	trigliceridi (mmol/l)	urea (mmol/l)	glikemija (mmol/l)	TP (g/l)	PTH (pg/ml)
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,038	0,079	-0,025	0,018	-0,157	0,032
	sign.	0,769	0,538	0,845	0,886	0,219	0,802
	N	63	63	63	63	63	63
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,361	-0,084	0,005	0,21	-0,083	-0,1
	sign.	0,004**	0,514	0,971	0,099	0,519	0,437
	N	63	63	63	63	63	63
sVEGF (pg/ml)	R	0,086	0,158	0,218	0,362	-0,098	-0,112
	sign.	0,502	0,217	0,087	0,004**	0,446	0,38
	N	63	63	63	63	63	63
idVEGF (pg/ml)	R	0,360	0,181	0,191	0,026	0,082	-0,086
	sign.	0,004**	0,156	0,133	0,837	0,524	0,504
	N	63	63	63	63	63	63
holesterol (mmol/l)	R	1	0,566	0,088	-0,067	0,042	-0,024
	sign.		0,000***	0,495	0,603	0,747	0,854
	N	63	63	63	63	63	63
trigliceridi (mmol/l)	R	0,566	1	0,202	-0,018	0,098	-0,058
	sign.	0,000***		0,113	0,889	0,445	0,65
	N	63	63	63	63	63	63
urea (mmol/l)	R	0,088	0,202	1	0,123	0,328	-0,23
	sign.	0,495	0,113		0,337	0,009**	0,069
	N	63	63	63	63	63	63
glikemija (mmol/l)	R	-0,067	-0,018	0,123	1	-0,124	-0,163
	sign.	0,603	0,889	0,337		0,334	0,203
	N	63	63	63	63	63	63
TP (g/l)	R	0,042	0,098	0,328	-0,124	1	-0,076
	sign.	0,747	0,445	0,009**	0,334		0,552
	N	63	63	63	63	63	63
PTH (pg/ml)	R	-0,024	-0,058	-0,23	-0,163	-0,076	1
	sign.	0,854	0,65	0,069	0,203	0,552	
	N	63	63	63	63	63	63

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; TP = ukupni proteini; PTH = parathormon



Grafikon 21. Korelacija koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu i holesterolemije bolesnika prevalentne grupe



Grafikon 22. Korelacija koncentracija VEGF-a u serumu i glikemije bolesnika prevalentne grupe

4.2.7 Parametri seruma i kvalitet peritoneumske dijalize bolesnika incidentne grupe

U ovoj studiji 20 bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću ispitano je na početku lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize i posle 6 meseci.

U grupi incidentnih bolesnika posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize koncentracije fibrinogena, gvožđa, TIBC, SAT, PTH i ukupne proteinemije su neznatno manje, dok su koncentracije uree, kreatinina, albumina, CRP-a, holesterola, triglicerida, hemoglobina, HTC-a i feritina neznatno veće, ali razlike nisu statistički značajne (Tabela 36).

Tabela 36. Biohemijski parametri bolesnika incidentne grupe na početku (Grupa 1A) i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

	Grupa	prosek	SD	medijana	F test/Z test, p
pUr (mmol/l)	1A	18,94	5,47	18,10	Z=0,632 p=0,819
	1B	18,99	6,11	18,45	
glikemija (mmol/l)	1A	6,25	2,38	5,20	Z=0,316 p=1,000
	1B	6,09	2,48	5,25	
sCr (μ mol/l)	1A	661,25	177,65	610,00	Z=0,316 p=1,000
	1B	698,85	243,30	642,00	
albumini (g/l)	1A	31,30	5,20	32,00	F=0,159 p=0,692
	1B	32,00	5,87	34,00	
fibrinogen (g/l)	1A	5,50	1,41	5,65	F=0,556 p=0,460
	1B	5,16	1,50	4,95	
CRP (IU/l)	1A	6,30	6,04	4,10	Z=0,474 p=0,978
	1B	6,64	5,63	7,00	
Fe (μ mol/l)	1A	10,77	5,00	10,00	Z=0,632 p=0,819
	1B	10,30	3,68	10,45	
TIBC	1A	38,64	7,60	37,85	F=0,125 p=0,726
	1B	37,59	10,92	40,00	
ferritin (mmol/l)	1A	248,23	223,40	201,50	Z=0,632 p=0,819
	1B	295,09	253,00	186,50	
PTH (pg/ml)	1A	296,60	207,38	230,00	Z=0,474 p=0,978
	1B	290,50	205,37	237,50	
HB (g/l)	1A	99,15	14,52	96,50	F=0,876 p=0,355
	1B	102,95	10,90	104,50	
HTC	1A	0,30	0,04	0,30	F=0,729 p=0,399
	1B	0,31	0,03	0,32	
SAT (%)	1A	30,50	14,09	28,00	Z=0,632 p=0,819
	1B	26,50	7,72	28,00	
holesterol (mmol/l)	1A	5,58	1,71	5,90	Z=0,474 p=0,978
	1B	5,97	2,07	5,60	
trigliceridi (mmol/l)	1A	1,86	0,95	1,41	Z=0,949 p=0,329
	1B	2,10	1,00	1,80	
TP (g/l)	1A	63,20	7,33	63,50	F=0,022 p=0,883
	1B	62,85	7,65	62,00	

Legenda: pUr = koncentracija uree u krvi; sCr = koncentracija kreatinina u serumu; CRP = C reaktivni protein; Fe = feremija; TIBC = ukupni kapacitet vezivanja gvožđa; PTH = parathormon; HB = hemoglobin; HTC = hematokrit; SAT = procenat saturacije ferritina; TP = ukupna proteinemija; Z = Z test; F = F test

Bolesnici u incidentnoj grupi su imali rezidualnu diurezu, a prosečne vrednosti ukupnih nedeljnih klirensa uree i kreatinina su u skladu sa preporukama o kvalitetu dijalize, prosečne vrednosti nPCR-a u oba momenta ispitivanja su ispod 1 g/kgTM/dan. Ove vrednosti na početku i posle 6 meseci PD nisu se značajno razlikovale (Tabela 37).

Bolesnici su ulivali najmanje po 8 l dijalizata dnevno i izlivali količinu dijalizata veću od ulivene (Tabela 37).

Transportni statusi (PET) glukoze i kreatinina nisu se statistički značajno razlikovali na početku i posle 6 meseci dijalize (Tabela 37).

Tabela 37. Parametri kvaliteta dijalize bolesnika incidentne grupe na početku (Grupa 1A) i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

	Grupa	prosek	SD	med.	F test/Z test, p
RD (ml/dan)	1A	867,50	426,82	725,00	Z=0,316 p=1,000
	1B	822,50	432,70	775,00	
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	1A	70,49	13,58	69,25	F=0,065 p=0,800
	1B	69,37	13,98	68,86	
per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	1A	43,60	7,36	43,38	F=0,313 p=0,579
	1B	42,15	8,94	42,91	
rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)	1A	28,06	14,24	25,26	Z=0,632 p=0,819
	1B	29,45	14,02	27,04	
uk.ned. Kt/V	1A	2,198	0,403	2,115	F=0,106 p=0,746
	1B	2,154	0,450	2,090	
per. ned. Kt/V	1A	1,625	0,295	1,565	F=0,089 p=0,767
	1B	1,596	0,320	1,550	
rez. ned. Kt/V	1A	0,558	0,270	0,495	Z=0,316 p=1,000
	1B	0,556	0,280	0,515	
volumen ulivenog dijalizata (ml/dan)	1A	8350,00	875,09	8000,00	F=0,144 p=0,706
	1B	8250,00	786,40	8000,00	
volumen izlivenog dijalizata (ml/dan)	1A	9189,25	1165,74	8950,00	F=0,001 p=0,972
	1B	9176,75	1079,90	8910,00	
nPCR (g/kg/dan)	1A	0,859	0,178	0,840	F=0,125 p=0,725
	1B	0,880	0,188	0,905	
PETglukoza	1A	0,400	0,229	0,380	Z=0,632 p=0,819
	1B	0,365	0,199	0,330	
PETkreatinin	1A	0,614	0,170	0,620	F=0,462 p=0,501
	1B	0,647	0,130	0,660	

Legenda: RD = rezidualna diureza; uk. ned. = ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; nPCR = normalizovana jačina katabolizma belančevina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; Z = Z test; F = F test

4.2.8 Koncentracije faktora rasta TGF-β1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, Ca125 u izlivenom dijalizatu i homocisteina u serumu bolesnika incidentne grupe

Kod bolesnika incidentne grupe (Grupa 1) posle prvih 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize povećane su koncentracije TGF-β1 u serumu (Tabela 38, Grafikon 23) i u izlivenom dijalizatu (Tabela 38, Grafikon 24), ali nije dokazana značajna razlika medijana, ni varijansi prosečnih koncentracija ovog faktora rasta u odnosu na početak lečenja.

Koncentracije VEGF-a u serumu posle 6 meseci lečenja PD-ama povećane su statistički značajno ($p=0,012$) (Tabela 38, Grafikon 25), a u izlivenom dijalizatu statistički neznačajno u odnosu na početak lečenja (Tabela 38, Grafikon 26).

Tabela 38. Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, Ca125 u izlivenom dijalizatu i homocisteina u serumu bolesnika incidentne grupe na početku (Grupa 1A) i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

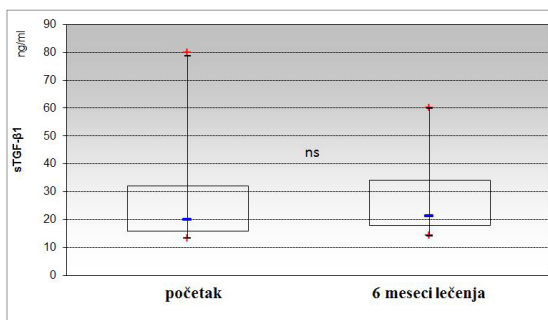
	Grupa	prosek	med.	Z	t	p
sTGF- β 1 (ng/ml)	1A	26,82 \pm 16,60	20,02	0,560	-0,294	0,772
	1B	27,94 \pm 14,70	21,26			
idTGF- β 1 (ng/ml)	1A	0,90 \pm 0,84	0,65	0,172	-1,199	0,245
	1B	1,19 \pm 0,73	0,93			
sVEGF (pg/ml)	1A	149,33 \pm 116,71	173,38	0,013	-2,793	0,012*
	1B	239,36 \pm 102,23	224,06			
idVEGF (pg/ml)	1A	38,44 \pm 50,47	15,60	0,560	-0,293	0,773
	1B	43,55 \pm 51,15	16,7			
homocistein (μ mol/l)	1A	26,81 \pm 12,78	24,9	0,351	0,674	0,508
	1B	25,58 \pm 12,38	23,9			
Ca125 (IU/l)	1A	28,83 \pm 25,35	21,40	0,329	2,643	0,016*
	1B	16,56 \pm 14,65	13,20			

Legenda: 1A = ncidentni bolesnici na početku lečenja; 1B = incidentni bolesnici posle 6 meseci lečenja; s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; Ca125 = karcinomski antigen 125; Z = Z test

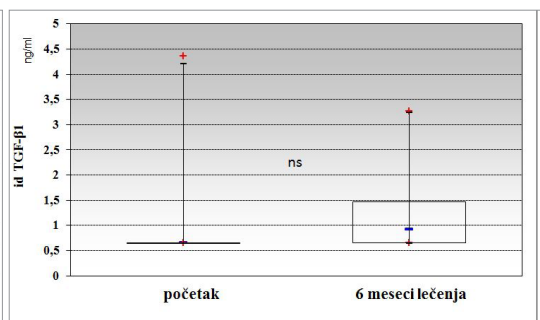
Tabela 38a. Korelacije koncentracija TGF- β 1 i VEGF u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku (Grupa 1A) i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

		Grupa 1A				Grupa 1B			
		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)
sTGF- β 1 (pg/ml)	R	1	-0,011	-0,216	-0,128	1	0,158	-0,124	-0,169
	sign.		0,962	0,362	0,590		0,506	0,603	0,476
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
idTGF- β 1 (pg/ml)	R		1	0,002	-0,143		1,000	0,279	0,647
	sign.			0,994	0,547			0,234	0,002**
	N		20	20	20		20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R			1	0,712			1,000	0,453
	sign.				0,000***				0,045*
	N			20	20			20	20
idVEGF (pg/ml)	R				1				1,000
	sign.								
	N				20				20

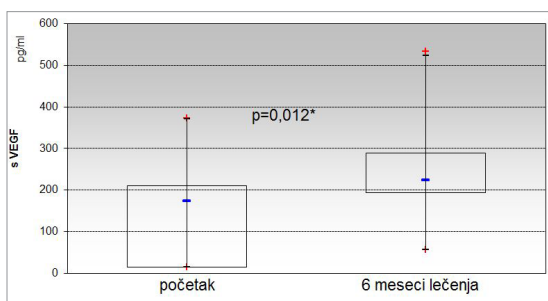
Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalzatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1



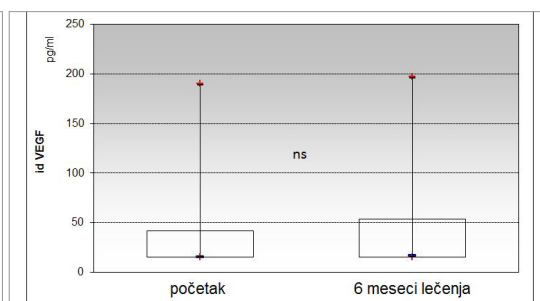
Grafikon 23. Koncentracija TGF-β1 u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama



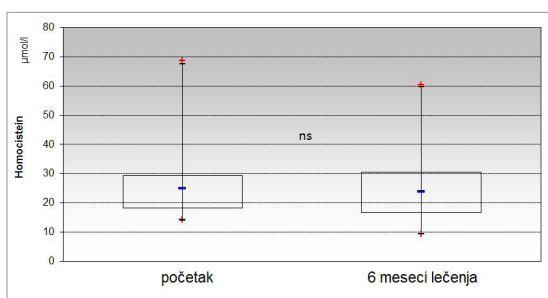
Grafikon 24. Koncentracija TGF-β1 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama



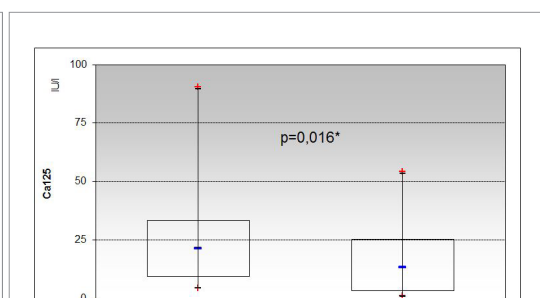
Grafikon 25. Koncentracija VEGF-a u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama



Grafikon 26. Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama



Grafikon 27. Koncentracija homocisteina u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama



Grafikon 28. Koncentracija Ca 125 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama

Koncentracija homocisteina u serumu posle 6 meseci lečenja PD-ama je statistički neznačajno manja u odnosu na početak lečenja (Tabela 38, Grafikon 27).

Koncentracija Ca125 u izlivenom dijalizatu posle 6 meseci lečenja PD-ama je statistički značajno manja u odnosu na početak lečenja ($p=0,016$) (Tabela 38, Grafikon 28).

Tabela 38b. Korelacija koncentracija homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu sa koncentracijama TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu na početku (Grupa 1A) i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

		Grupa 1A		Grupa 1B	
		homocistein (μ mol/l)	Ca125 (IU/l)	homocistein (μ mol/l)	Ca125 (IU/l)
sTGF- β 1 (pg/ml)	R	-0,388	-0,113	-0,398	0,162
	sign.	0,091	0,636	0,082	0,494
	N	20	20	20	20
idTGF- β 1 (pg/ml)	R	0,185	-0,005	-0,146	-0,416
	sign.	0,435	0,983	0,540	0,068
	N	20	20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R	0,062	0,033	-0,078	-0,220
	sign.	0,796	0,890	0,745	0,352
	N	20	20	20	20
idVEGF (pg/ml)	R	-0,208	-0,289	0,017	-0,308
	sign.	0,378	0,217	0,942	0,187
	N	20	20	20	20
homocistein (μ mol/l)	R	1,000	0,086	1,000	0,103
	sign.		0,719		0,665
	N	20	20	20	20
Ca125 (IU/l)	R	0,086	1,000	0,103	1,000
	sign.	0,719		0,665	
	N	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1

Koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu visoko statistički značajno koreliraju na početku lečenja ($R=0,712$, $p<0,0001^{**}$) i statistički značajno posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama ($R=0,453$, $p=0,045$). Koncentracije VEGF-a i TGF- β 1 statistički visoko značajno koreliraju posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama ($R=0,647$, $p=0,002$) (Tabela 38a).

Koncentracije homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu ne koreliraju značajno sa koncentracijama TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 38b).

4.2.9 Korelacije koncentracija faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i bihemijskih parametara u serumu bolesnika incidentne grupe

Na početku lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize korelacija koncentracije TGF- β 1 u serumu sa glikemijom je direktna, statistički značajna, ($p=0,016$) (Tabela 39a).

Tabela 39a. Korelacija koncentracija holesterola, triglicerida, proteinemije, PTH, uree i glikemije i koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1A)

		holesterol (mmol/l)	trigliceridi (mmol/l)	TP (g/l)	PTH (pg/ml)	pUr (μ mol/l)	glikemija (mmol/l)
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,416	0,139	-0,033	0,325	0,035	0,531
	sign.	0,068	0,560	0,889	0,161	0,884	0,016*
	N	20	20	20	20	20	20
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,071	0,032	0,079	-0,138	0,251	-0,099
	sign.	0,765	0,893	0,741	0,562	0,285	0,679
	N	20	20	20	20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R	-0,046	0,259	-0,092	0,068	0,042	-0,029
	sign.	0,849	0,270	0,699	0,777	0,861	0,905
	N	20	20	20	20	20	20
idVEGF (pg/ml)	R	-0,038	0,100	-0,211	0,163	-0,181	0,120
	sign.	0,874	0,675	0,372	0,493	0,445	0,615
	N	20	20	20	20	20	20
holesterol (mmol/l)	R	1,000	0,703	-0,412	-0,085	-0,024	0,041
	sign.		0,001**	0,071	0,722	0,919	0,864
	N	20	20	20	20	20	20
trigliceridi (mmol/l)	R	0,703	1,000	-0,457	-0,351	0,040	0,202
	sign.	0,001**		0,043*	0,129	0,866	0,392
	N	20	20	20	20	20	20
TP (g/l)	R	-0,412	-,457	1,000	0,190	0,538	0,053
	sign.	0,071	0,043*		0,422	0,014*	0,824
	N	20	20	20	20	20	20
PTH (pg/ml)	R	-0,085	-0,351	0,190	1,000	-0,418	0,053
	sign.	0,722	0,129	0,422		0,067	0,824
	N	20	20	20	20	20	20
pUr (μ mol/l)	R	-0,024	0,040	0,538	-0,418	1,000	0,039
	sign.	0,919	0,866	0,014*	0,067		0,871
	N	20	20	20	20	20	20
glikemija (mmol/l)	R	0,041	0,202	0,053	0,053	0,039	1,000
	sign.	0,864	0,392	0,824	0,824	0,871	
	N	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; TP = ukupna proteinemija; PTH = parathormon; pUr = koncentracija uree u plazmi

Nije nađena statistički značajna korelacija koncentracije TGF- β 1 u dijalizatu i koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu sa koncentracijom holesterola, triglicerida, PTH, glukoze, uree i kreatinina u serumu (Tabela 39a).

Tabela 39b. Korelacija koncentracija holesterola, triglicerida, PTH, glikemije, uree i kreatinina i koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

		holesterol (mmol/l)	trigliceridi (mmol/l)	TP (g/l)	PTH (pg/ml)	pUr (μ mol/l)	glikemija (mmol/l)	sCr (μ mol/l)
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,251	0,200	-0,097	0,344	-0,139	-0,115	-0,378
	sign.	0,286	0,397	0,686	0,138	0,560	0,630	0,100
	N	20	20	20	20	20	20	20
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,775	0,330	-0,115	0,185	0,072	0,341	0,032
	sign.	0,000***	0,155	0,629	0,434	0,764	0,141	0,893
	N	20	20	20	20	20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R	0,012	0,015	0,064	-0,176	0,268	0,569	0,133
	sign.	0,960	0,949	0,788	0,458	0,254	0,009**	0,577
	N	20	20	20	20	20	20	20
idVEGF (pg/ml)	R	0,586	0,156	0,027	-0,217	0,191	0,280	0,182
	sign.	0,007**	0,511	0,910	0,359	0,420	0,232	0,444
	N	20	20	20	20	20	20	20
holesterol (mmol/l)	R	1,000	0,703	-0,412	-0,085	-0,024	0,041	-0,060
	sign.		0,001**	0,071	0,722	0,919	0,864	0,803
	N	20	20	20	20	20	20	20
trigliceridi (mmol/l)	R	0,703	1,000	-0,457	-0,351	0,040	0,202	0,119
	sign.	0,001**		0,043*	0,129	0,866	0,392	0,619
	N	20	20	20	20	20	20	20
TP (g/l)	R	-0,412	-0,457	1,000	0,190	0,538	0,053	0,353
	sign.	0,071	0,043*		0,422	0,014*	0,824	0,127
	N	20	20	20	20	20	20	20
PTH (pg/ml)	R	-0,085	-0,351	0,190	1,000	-0,418	0,053	-0,249
	sign.	0,722	0,129	0,422		0,067	0,824	0,290
	N	20	20	20	20	20	20	20
pUr (μ mol/l)	R	-0,024	0,040	0,538	-0,418	1,000	0,039	0,536*
	sign.	0,919	0,866	0,014*	0,067		0,871	0,015
	N	20	20	20	20	20	20	20
glikemija (mmol/l)	R	0,041	0,202	0,053	0,053	0,039	1,000	0,339
	sign.	0,864	0,392	0,824	0,824	0,871		0,143
	N	20	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; TP = ukupna proteinemija; PTH = parathormon; pUr = koncentracija uree u plazmi; sCr = koncentracija kreatinina u serumu

Posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama postoji:

- statistički visoko značajna direktna korelacija holesterolemije sa koncentracijom TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu ($p < 0,0001$) (Tabela 39b) i sa koncentracijom VEGF-a u izlivenom dijalizatu ($p = 0,007$) (Tabela 39b),
- statistički visoko značajna direktna korelacija glikemije sa koncentracijom VEGF-a u izlivenom dijalizatu ($p = 0,009$) (Tabela 39b).

Na početku hroničnog programa peritoneumske dijalize postoji:

1. direktna, statistički visoko značajna korelacija:
 - koncentracije sVEGF-a i fibrinogena ($p = 0,009$) (Tabela 40a),
 - vrednosti CRP-a i fibrinogena ($p < 0,000$) (Tabela 40a),
2. a ne postoji statistički značajna korelacija:
 - koncentracije sVEGF-a sa koncentracijama fibrinogena, CRP-a i albumina u serumu (Tabela 40a),
 - koncentracije sTGF- β 1, idTGF- β 1 i idVEGF-a sa koncentracijama fibrinogena, CRP-a i albumina u serumu (Tabela 40a).

Tabela 40a. Korelacija parametara inflamacije i koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1A)

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	fibrinogen (g/l)	CRP (IU/l)	albumin (g/l)
fibrinogen (g/l)	R	0,250	0,225	0,566	0,159	1,000	0,869	-0,103
	sign.	0,287	0,341	0,009**	0,503		0,000***	0,665
	N	20	20	20	20	20	20	20
CRP (IU/l)	R	0,430	0,071	0,403	0,046	0,869	1,000	-0,204
	sign.	0,058	0,767	0,078	0,849	0,000***		0,389
	N	20	20	20	20	20	20	20
albumin (g/l)	R	-0,056	0,227	-0,101	-0,037	-0,103	-0,204	1,000
	sign.	0,816	0,335	0,671	0,878	0,665	0,389	
	N	20	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; CRP = C reaktivni protein

Posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama:

- korelacija koncentracije sVEGF-a i fibrinogena je direktna, statistički značajna ($p = 0,001$) (Tabela 40b),
- nisu nađene druge statistički značajne korelacije između koncentracije sTGF- β 1, idTGF- β 1, sVEGF-a i idVEGF-a i koncentracija fibrinogena, CRP-a i albumina u serumu (Tabela 40b).

Tabela 40b. Korelacija parametara inflamacije i koncentracija TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	fibrinogen (g/l)	CRP (IU/l)	albumini (g/l)
fibrinogen (g/l)	R	-0,075	0,310	0,661	0,384	1,000	0,419	-0,388
	sign.	0,754	0,183	0,001**	0,095		0,066	0,091
	N	20	20	20	20	20	20	20
CRP (IU/l)	R	0,110	0,009	0,201	-0,114	0,419	1,000	0,090
	sign.	0,645	0,969	0,396	0,632	0,066		0,706
	N	20	20	20	20	20	20	20
albumini (g/l)	R	-0,174	0,056	-0,036	-0,056	-0,388	0,090	1,000
	sign.	0,463	0,814	0,879	0,813	0,091	0,706	
	N	20	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; CRP = C reaktivni protein

4.2.10 Korelacije parametara adekvatnosti peritoneumske dijalize i faktora rasta TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe

Na početku lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize nađene su statistički značajne obrnute korelacije koncentracija TGF- β 1 u serumu:

- sa rezidualnim nedeljnim Kt/V (R=-0,446, p=0,049) (Tabela 41a, Grafikon 29),
- sa ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 1,7 (R= -0,463, p=0,040) (Tabela 41a, Grafikon 30),
- sa ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 2 (R= -0,530, p=0,016) (Tabela 41a, Grafikon 31),
- Koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu statistički visoko značajno direktno korelira sa nPCR (R=0,610, p=0,004) (Tabela 41a, Grafikon 32).

Na početku lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize nije nađena statistički značajna korelacija:

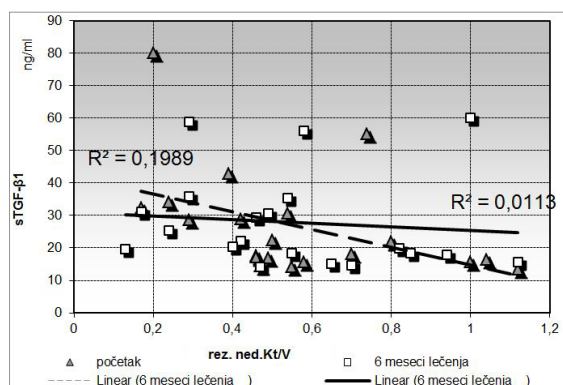
- koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu sa ukupnim nedeljnim Kt/V, rezidualnim nedeljnim Kt/V, peritoneumskim nedeljnim Kt/V, ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 1,7, ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 2,

- koncentracija VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu sa ukupnim nedeljnim, peritoneumskim nedeljnim, ni rezidualnim nedeljnim Kt/V,
- koncentracije homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu sa klirensima uree (Tabela 41a).

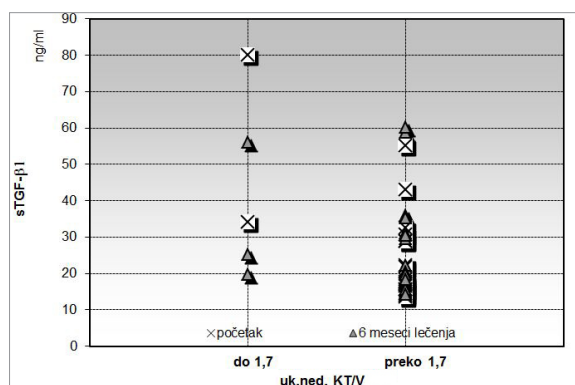
Tabela 41a. Korelacija Kt/V i homocisteina u serumu, Ca125 u izlivenom dijalizatu i TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1A)

		nPCR (g/kg/dan)	uk. ned. Kt/V	per. ned. Kt/V	rez. ned. Kt/V	uk.ned. KT/V >1,7<	uk. ned. KT/V >2<
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	-0,173	-0,385	-0,085	-0,446	-0,463	-0,530
	sign.	0,466	0,094	0,721	0,049*	0,040*	0,016*
	N	20	20	20	20	20	20
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,610	0,239	0,286	0,061	0,139	0,274
	sign.	0,004**	0,309	0,222	0,797	0,558	0,243
	N	20	20	20	20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R	0,008	0,087	0,076	0,095	0,059	-0,193
	sign.	0,972	0,714	0,75	0,69	0,805	0,414
	N	20	20	20	20	20	20
idVEGF (pg/ml)	R	-0,032	0,435	0,355	0,273	-0,089	-0,198
	sign.	0,893	0,055	0,124	0,244	0,709	0,402
	N	20	20	20	20	20	20
homocistein (μ mol/l)	R	0,307	-0,016	-0,18	0,189	0,231	0,208
	sign.	0,188	0,945	0,448	0,425	0,327	0,379
	N	20	20	20	20	20	20
Ca125 (IU/l)	R	0,152	-0,066	-0,366	0,275	0,202	-0,019
	sign.	0,522	0,782	0,112	0,241	0,392	0,937
	N	20	20	20	20	20	20
uk. ned. Kt/V	R	1,000	0,708	0,704	0,521	0,795	1,000
	sign.		0,000***	0,001***	0,019*	0,000***	
	N	20	20	20	20	20	20
per. ned. Kt/V	R	0,708	1,000	0,003	0,434	0,596**	0,708
	sign.	0,000***		0,989	0,056	0,006	0,000***
	N	20	20	20	20	20	20
rez. ned. Kt/V	R	0,704	0,003	1,000	0,463	0,521	0,704
	sign.	0,001**	0,989		0,040**	0,019*	0,001**
	N	20	20	20	20	20	20
uk. ned. KT/V >1,7<	R	0,575	0,376	0,427	1,000	0,509	0,575
	sign.	0,008**	0,102	0,060		0,022*	0,008**
	N	20	20	20	20	20	20
uk. ned. KT/V >2<	R	0,732	0,584	0,450	0,509	1,000	0,732
	sign.	0,000***	0,007**	0,046*	0,022*		0,000***
	N	20	20	20	20	20	20
nPCR (g/kg/dan)	R	1,000	0,338	0,344	0,455*	0,381	0,097
	sign.		0,145	0,137	0,044	0,098	0,684
	N	20	20	20	20	20	20

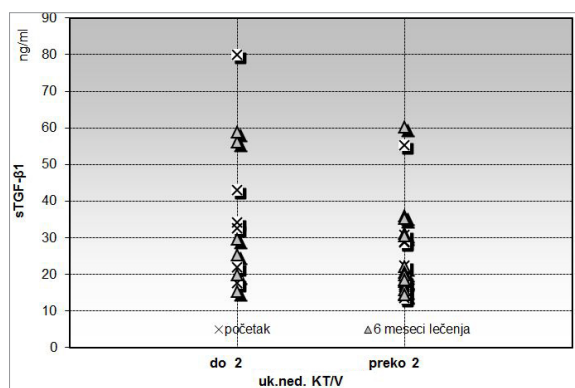
Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; uk. ned. = ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; nPCR = normalizovana jačina katabolizma belančevina



Grafikon 29. Korelacija rezidualnog nedeljnog Kt/V i koncentracije TGF-β1 u serumu kod bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 30. Odnos koncentracije TGF-β1 u serumu i Kt/V do i preko 1,7 kod bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 31. Odnos koncentracije TGF-β1 u serumu i Kt/V do i preko 2 kod bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize

Tabela 41b. Korelacija Kt/V i koncentracija homocisteina u serumu, Ca125 u izlivenom dijalizatu i TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

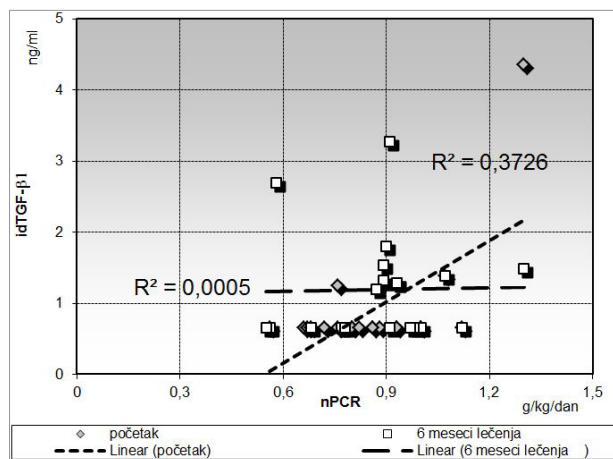
		nPCR (g/kg/dan)	uk. ned. Kt/V	per. ned. Kt/V	rez. ned. Kt/V	uk. ned. KT/V >1,7<	uk.ned. KT/V > 2<
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	-0,161	-0,200	-0,187	-0,106	-0,158	-0,264
	sign.	0,497	0,397	0,430	0,655	0,506	0,261
	N	20	20	20	20	20	20
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,023	-0,277	0,005	-0,441	0,013	0,010
	sign.	0,925	0,236	0,982	0,052	0,957	0,968
	N	20	20	20	20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R	-0,095	-0,206	0,022	-0,349	-0,425	-0,309
	sign.	0,691	0,384	0,925	0,132	0,062	0,185
	N	20	20	20	20	20	20
idVEGF (pg/ml)	R	-0,042	-0,203	0,151	-0,488	-0,293	-0,353
	sign.	0,861	0,391	0,524	0,029*	0,210	0,127
	N	20	20	20	20	20	20
homocistein (μ mol/l)	R	0,368	-0,204	-0,286	-0,008	-0,085	-0,045
	sign.	0,110	0,389	0,222	0,973	0,722	0,849
	N	20	20	20	20	20	20
Ca125 (IU/l)	R	0,401	-0,015	0,025	-0,057	0,231	0,191
	sign.	0,080	0,951	0,916	0,810	0,328	0,420
	N	20	20	20	20	20	20
uk. ned. Kt/V	R	0,310	1,000	0,781	0,711	0,619	0,827
	sign.	0,184		0,000***	0,000***	0,004**	0,000***
	N	20	20	20	20	20	20
per. ned. Kt/V	R	0,304	0,781	1,000	0,116	0,547	0,609
	sign.	0,192	0,000***		0,625	0,013*	0,004**
	N	20	20	20	20	20	20
rez. ned. Kt/V	R	0,415	0,711	0,116	1,000	0,352	0,509
	sign.	0,069	0,000***	0,625		0,128	0,022*
	N	20	20	20	20	20	20
uk. ned. KT/V >1,7<	R	0,387	0,511	0,316	0,453	1,000	0,572
	sign.	0,092	0,021*	0,175	0,045*		0,008**
	N	20	20	20	20	20	20
uk. ned. KT/V >2<	R	0,053	0,684	0,445	0,586	0,572	1,000
	sign.	0,826	0,001**	0,049*	0,007**	0,008**	
	N	20	20	20	20	20	20
nPCR (g/kg/dan)	R	1,000	0,310	0,304	0,415	0,387	0,053
	sign.		0,184	0,192	0,069	0,092	0,826
	N	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; uk. ned.= ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; nPCR = normalizovana jačina katabolizma belančevina

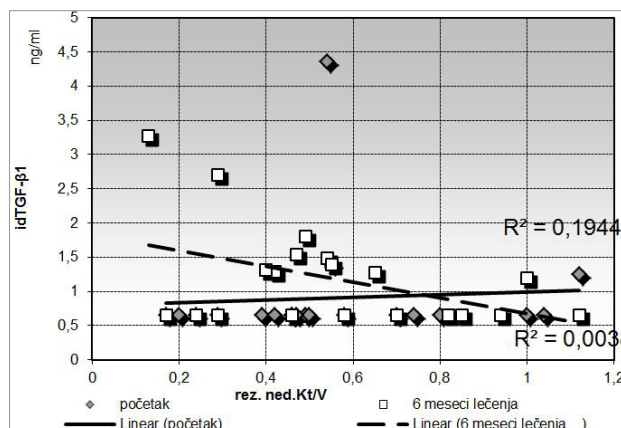
Posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama nađena je statistički značajna obrnuta korelacija koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu sa rezidualnim

nedeljnim Kt/V ($R = -0,488$, $p = 0,029$) (Tabela 41b, Grafikon 33), a nisu nađene statistički značajne korelacije

- koncentracije VEGF-a u serumu i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu sa ukupnim nedeljnim, peritoneumskim nedeljnim i rezidualnim nedeljnim Kt/V, kao ni sa ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 1,7 i sa ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 2,
- koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu sa ukupnim nedeljnim i sa peritoneumskim nedeljnim Kt/V, kao ni sa ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 1,7 i sa ukupnim nedeljnim Kt/V do i preko 2,
- koncentracije homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu sa klirensima uree (Tabela 41b).



Grafikon 32. Korelacija nPCR-a i koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu kod bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 33. Korelacija rezidualnog nedeljnog Kt/V i koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu kod bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize

Na početku hroničnog programa peritoneumske dijalize:

- koncentracija TGF- β 1 u serumu statistički visoko značajno obrnuto korelira sa ukupnim ($R=-0,581$, $p=0,007$) (Tabela 42a, Grafikon 34) i peritoneumskim nedeljnim ClCr ($R=-0,665$, $p=0,001$) (Tabela 42a, Grafikon 35).

Nema statistički značajne korelacije između:

- koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu i parametara ClCr,
- koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu i parametara ClCr,
- koncentracije homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu i klirensa kreatinina (Tabela 42a).

Tabela 42a. Korelacija ClCr i koncentracija homocisteina u serumu, Ca125 u izlivenom dijalizatu, TGF- β 1 i VEGF u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1A)

		sTGF- β 1 (ng/ml)	idTGF- β 1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)
homocistein (μ mol/l)	R	-0,388	0,185	0,062	-0,208	0,189	0,094	0,212
	sign.	0,091	0,435	0,796	0,378	0,426	0,692	0,369
	N	20	20	20	20	20	20	20
Ca125 (IU/l)	R	-0,113	-0,005	0,033	-0,289	0,257	0,000	-0,378
	sign.	0,636	0,983	0,890	0,217	0,274	1,000	0,101
	N	20	20	20	20	20	20	20
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	-0,581	0,092	0,147	0,214	1,000	0,795	0,341
	sign.	0,007**	0,701	0,538	0,365		0,000***	0,141
	N	20	20	20	20	20	20	20
per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	-0,665	-0,053	-0,083	0,181	0,795	1,000	0,446
	sign.	0,001**	0,825	0,727	0,446	0,000***		0,048*
	N	20	20	20	20	20	20	20
rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	-0,192	0,073	0,066	0,199	0,341	0,446	1,000
	sign.	0,418	0,761	0,783	0,401	0,141	0,048*	
	N	20	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; uk. ned. = ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina

Posle 6 meseci lečenja PD-om nađene su korelacije koncentracije TGF- β 1 :

- obrnute statistički visoko značajne u serumu sa peritoneumskim nedeljnim ClCr ($R=-0,617$, $p=0,004$) (Tabela 42b, Grafikon 36),
- obrnute statistički značajne u izlivenom dijalizatu sa ukupnim nedeljnim ClCr ($R=-0,510$, $p=0,022$) i u serumu sa ukupnim nedeljnim ClCr ($R=-0,490$, $p=0,028$) i rezidualnim nedeljnim ClCr ($R=-0,521$, $p=0,018$) (Tabela 42b, Grafikon 37).

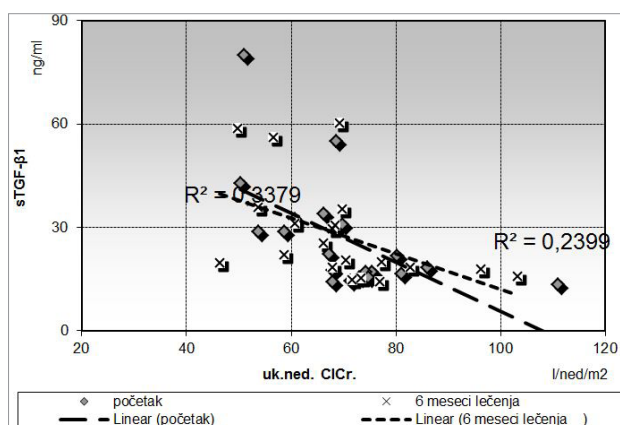
Posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama:

- koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu ne koreliraju značajno sa klirensima kreatinina,
- koncentracije homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu nisu u korelaciji sa klirensima kreatinina (Tabela 42b).

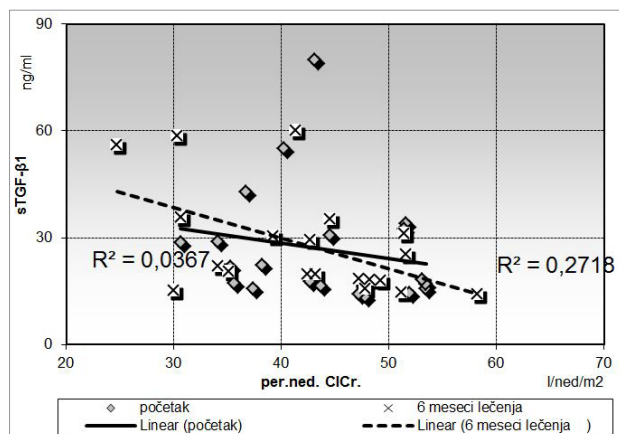
Tabela 42b. Korelacija ClCr i koncentracija homocisteina u serumu, Ca125 u izlivenom dijalizatu, TGF-β1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Grupa 1B)

		sTGF-β1 (ng/ml)	idTGF-β1 (ng/ml)	sVEGF (pg/ml)	idVEGF (pg/ml)	uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)
homocistein (μmol/l)	R	-0,398	-0,146	-0,078	0,017	0,005	0,178	0,096
	sign.	0,082	0,540	0,745	0,942	0,982	0,453	0,686
	N	20	20	20	20	20	20	20
Ca125 (IU/l)	R	0,162	-0,416	-0,220	-0,308	-0,116	-0,046	-0,319
	sign.	0,494	0,068	0,352	0,187	0,628	0,848	0,171
	N	20	20	20	20	20	20	20
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	-0,490	-0,510	-0,254	-0,320	1,000	0,827	0,478
	sign.	0,028*	0,022*	0,280	0,169		0,000***	0,033*
	N	20	20	20	20	20	20	20
per. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	-0,617	-0,419	-0,374	-0,198	0,827	1,000	0,528
	sign.	0,004**	0,066	0,104	0,403	0,000***		0,017*
	N	20	20	20	20	20	20	20
rez. ned. ClCr (l/ned/m ²)	R	-0,521	-0,185	0,075	0,367	0,478	0,528	1,000
	sign.	0,018*	0,436	0,753	0,112	0,033*	0,017*	
	N	20	20	20	20	20	20	20

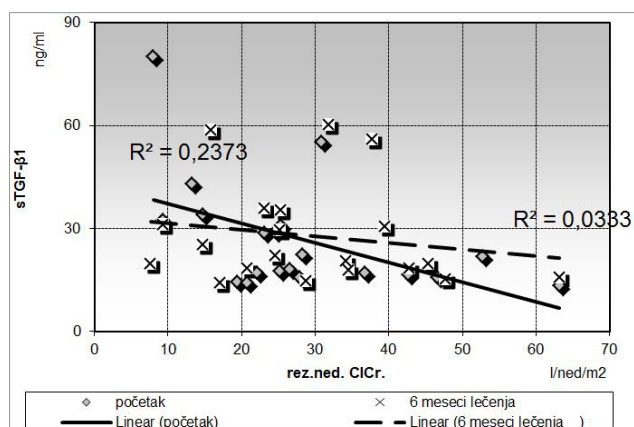
Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF-β1 = transformišući faktor rasta β1; uk. ned. = ukupni nedeljni; per. ned. = peritoneumski nedeljni; rez. ned. = rezidualni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina



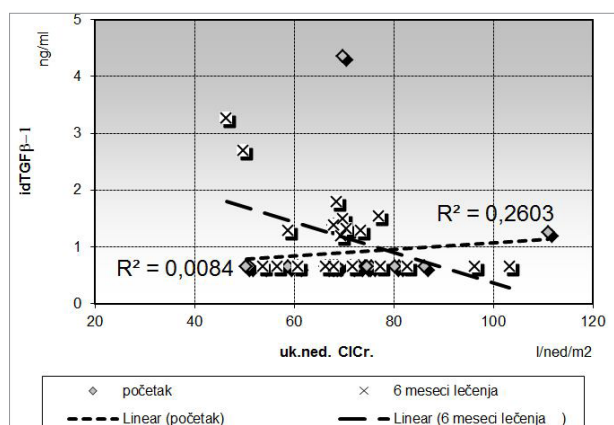
Grafikon 34. Korelacija ukupnog nedeljnog ClCr i koncentracija TGF-β1 u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja PD-om



Grafikon 35. Korelacija peritoneumskog nedeljnog CIcr i koncentracija TGF-β1 u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 36. Korelacija rezidualnog nedeljnog CIcr i koncentracija TGF-β1 u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 37. Korelacija ukupnog nedeljnog CIcr i koncentracija TGF-β1 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize

Tabela 43. Korelacija transportnog statusa trbušne maramice i rezidualne funkcije bubrega sa koncentracijama TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama

		početak		6 meseci		pocetak		6 meseci	
		PET glukoze	PET kreatinina	PET glukoze	PET kreatinina	RD (ml/dan)	RRF (ml/min)	RD (ml/dan)	RRF (ml/min)
sTGF- β 1 (ng/ml)	R	0,026	-0,406	-0,036	-0,177	-0,364	-0,147	-0,274	-0,048
	sign.	0,915	0,075	0,881	0,454	0,114	0,535	0,242	0,840
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
idTGF- β 1 (ng/ml)	R	-0,366	0,139	-0,336	0,234	-0,120	-0,330	-0,263	-0,370
	sign.	0,113	0,560	0,147	0,321	0,613	0,155	0,263	0,108
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
sVEGF (pg/ml)	R	0,016	-0,457	0,069	0,304	-0,692	-0,336	-0,589	-0,429
	sign.	0,946	0,043*	0,772	0,192	0,001**	0,147	0,006**	0,049*
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
idVEGF (pg/ml)	R	-0,565	-0,506	-0,412	0,450	-0,327	-0,691	-0,409	-0,552
	sign.	0,009**	0,023*	0,071	0,047*	0,160	0,001**	0,073	0,012*
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
homocistein (μ mol/l)	R	-0,107	0,077	-0,065	0,076	0,126	-0,117	0,283	-0,076
	sign.	0,653	0,748	0,786	0,751	0,597	0,622	0,227	0,751
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
Ca125 (IU/l)	R	0,036	-0,443	0,350	-0,546	0,185	0,202	0,020	0,063
	sig.	0,880	0,050	0,131	0,013*	0,434	0,394	0,932	0,791
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
PET glukoze	R	1,000	-0,518	1,000	-0,594	0,141	0,534	-0,055	0,331
	sign.		0,019*		0,006**	0,554	0,015	0,819	0,154
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
PET kreatinina	R	-0,518	1,000	-0,594	1,000	-0,042	-0,360	0,082	-0,230
	sign.	0,019*		0,006**		0,861	0,119	0,732	0,329
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
RD (ml/dan)	R	0,141	-0,042	-0,055	0,082	1,000	0,684	1,000	0,654
	sign.	0,554	0,861	0,819	0,732		0,001**		0,002**
	N	20	20	20	20	20	20	20	20
RRF (ml/min)	R	0,534	-0,360	0,331	-0,230	0,684	1,000	0,654	1,000
	sign.	0,015*	0,119	0,154	0,329	0,001**		0,002**	
	N	20	20	20	20	20	20	20	20

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma (*peritoneal equilibration test*); RD = rezidualna diureza; RRF = rezidualna renalna funkcija (*residual renal function*)

Na početku hroničnog programa peritoneumske dijalize:

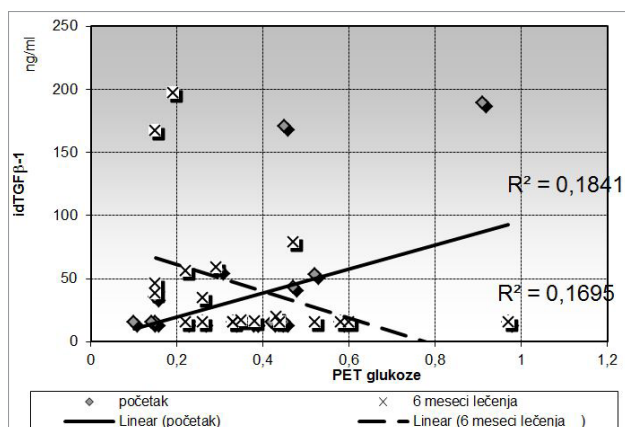
- koncentracije idVEGF-a koreliraju obrnuto statistički visoko značajno sa $PET_{glukoze}$ ($R = -0,565$, $p = 0,009$) (Tabela 43, Grafikon 38) i statistički značajno sa $PET_{kreatinina}$ ($R = -0,506$, $p = 0,023$) (Tabela 43, Grafikon 39),
- koncentracije sVEGF-a statistički značajno obrnuto koreliraju sa $PET_{kreatinina}$ ($R = -0,457$, $p = 0,043$) (Tabela 43, Grafikon 40),
- koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 ne koreliraju statistički značajno sa transportnim statusom glukoze i kreatinina,
- koncentracije sVEGF-a su u obrnutoj statistički visoko značajnoj korelaciji sa RD ($R = -0,691$, $p = 0,001$) (Tabela 43, Grafikon 42),
- koncentracije idVEGF-a su u obrnutoj statistički visoko značajnoj korelaciji sa RRF ($R = -0,691$, $p = 0,001$) (Tabela 43, Grafikon 43),
- koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 ne koreliraju statistički značajno sa RD i sa RRF,
- koncentracije homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu ne koreliraju statistički značajno sa $PET_{glukoze}$, $PET_{kreatinina}$, RD i RRF (Tabela 43).

Posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama nađene su statistički značajne korelacije:

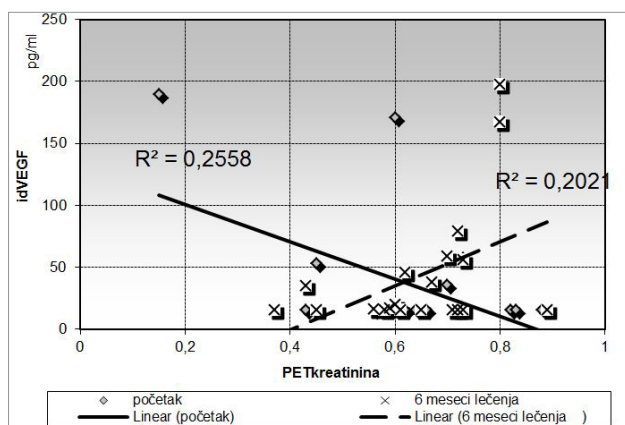
- koncentracije idVEGF sa $PET_{kreatinina}$ ($R = 0,450$, $p = 0,047$), direktna korelacija (Tabela 43, Grafikon 39),
- koncentracije idVEGF sa RRF ($R = -0,552$, $p = 0,012$), obrnuta korelacija (Tabela 43, Grafikon 43),
- koncentracija Ca125 u izlivenom dijalizatu sa $PET_{kreatinina}$ ($R = -0,546$, $p = 0,013$) (Tabela 43), obrnuta korelacija (Tabela 43, Grafikon 41),
- koncentracije sVEGF sa RD ($R = -0,589$, $p = 0,006$), obrnuta, visoko značajna korelacija (Tabela 43, Grafikon 42),

nisu nađene statistički značajne korelacije:

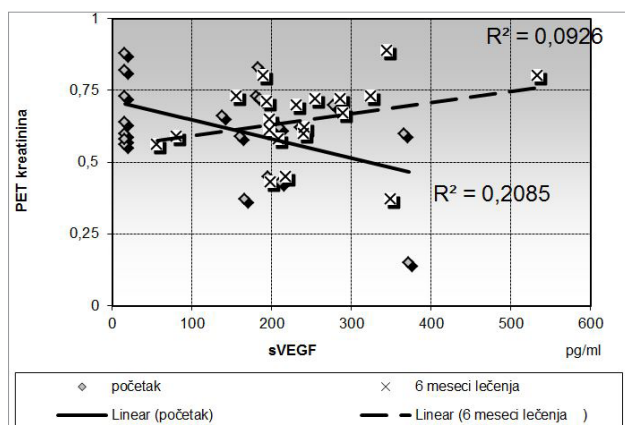
- koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 sa $PET_{glukoze}$ i $PET_{kreatinina}$,
- koncentracije sVEGF sa $PET_{glukoze}$ i $PET_{kreatinina}$,
- koncentracije sTGF- β 1 i idTGF- β 1 sa RD i sa RRF,
- koncentracije homocisteina u serumu sa PET, RD i RRF.



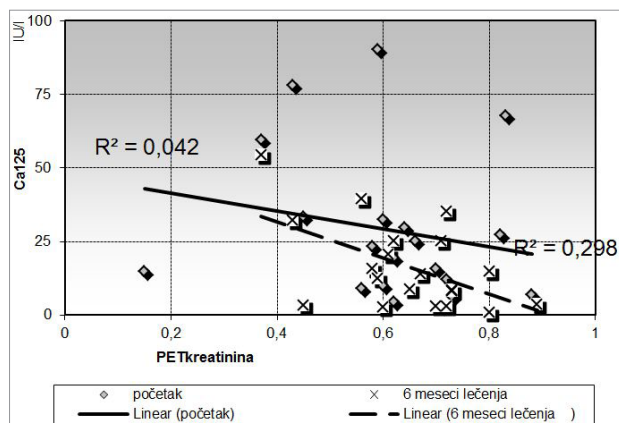
Grafikon 38. Korelacija $PET_{glukoze}$ i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



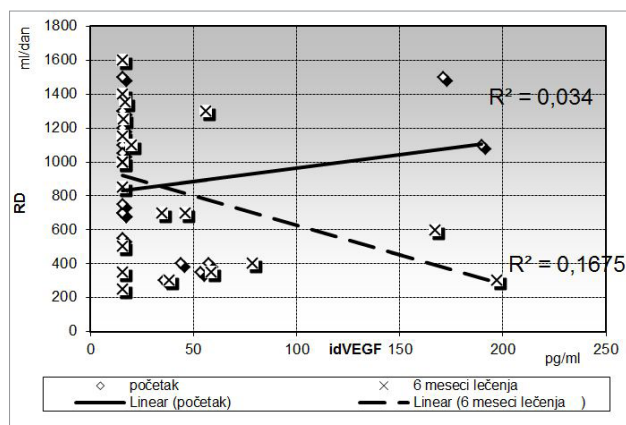
Grafikon 39. Korelacija $PET_{kreatinina}$ i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



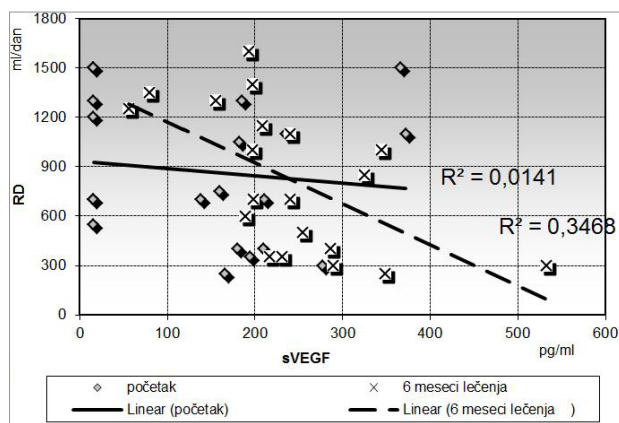
Grafikon 40. Korelacija $PET_{kreatinina}$ i koncentracije VEGF-a u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



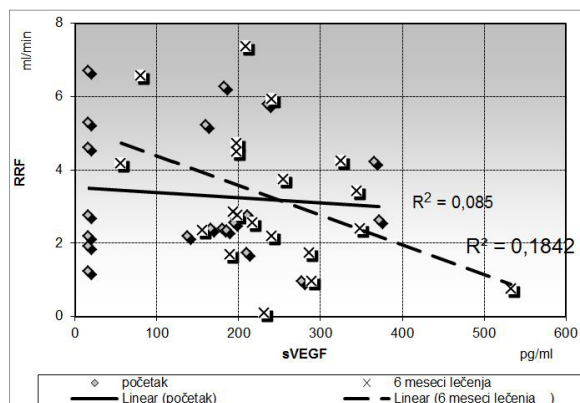
Grafikon 41. Korelacija $PET_{kreatinina}$ i koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 42. Korelacija RD i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 43. Korelacija RD i koncentracije VEGF-a u serumu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize



Grafikon 44. Korelacija RRF i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja PD-om

4.2.11 Uticaj peritonitisa i terapije stimulatorima eritropoeze na koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe

Tabela 44. Uticaj peritonitisa na koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe (Grupa 1) posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama

	peritonitis	N	prosek \pm SD	CV	med.	F test / Z test, p
sTGF- β 1 (ng/ml)	ne	17	28,63 \pm 15,66	55%	20,40	F=0,470
	da	3	24,01 \pm 7,83	33%	25,26	p=0,980
idTGF- β 1 (ng/ml)	ne	17	1,28 \pm 0,76	59%	1,28	Z=0,939
	da	3	0,65 \pm 0,00	0%	0,00	p=0,341
sVEGF (pg/ml)	ne	17	235,51 \pm 109,75	47%	217,31	Z=0,751
	da	3	261,20 \pm 45,67	17%	286,01	p=0,625
idVEGF (pg/ml)	ne	17	43,44 \pm 54,57	126%	16,30	Z=0,595
	da	3	44,18 \pm 32,01	72%	38,16	p=0,871
homocistein (μ mol/l)	ne	17	25,45 \pm 13,47	53%	22,15	Z=0,939
	da	3	26,35 \pm 1,89	7%	26,46	p=0,341
Ca125 (IU/l)	ne	17	17,56 \pm 15,54	89%	12,50	Z=0,658
	da	3	10,90 \pm 7,00	64%	13,90	p=0,780

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; Ca125 = karcinomski antigen 125; CV = koeficijent varijacije

Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu nisu se značajno razlikovale kod bolesnika incidentne grupe koji nisu imali nijednu epizodu peritonitisa u odnosu

na one koji su preležali peritonitis tokom 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize (Tabela 44), ni kod bolesnika koji su dobijali i koji nisu dobijali stimulatore eritropoeze (Tabela 44a).

Tabela 44a. Uticaj lečenja stimulatorima eritropoeze na koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu, homocisteina u serumu i Ca125 u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe (Grupa 1) posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama

	ESA	N	prosek \pm SD/med.	CV(%)	F test /Z test, p
sTGF- β 1 (pg/ml)	ne	5	48,24 \pm 13,97	29%	F=36,51 p<0,001
	da	15	21,17 \pm 6,40	30%	
idTGF- β 1 (pg/ml)	ne	5	1,40 \pm 1,20	62%	Z=0,645 p=0,799
	da	15	1,12 \pm 0,65	63%	
sVEGF (pg/ml)	ne	5	230,98 \pm 240,20	42%	Z=0,775 p=0,586
	da	15	242,16 \pm 208,50	44%	
idVEGF (pg/ml)	ne	5	25,44 \pm 17,10	74%	Z=0,516 p=0,952
	da	15	49,58 \pm 17,10	116%	
homocistein (μ mol/l)	ne	5	18,15 \pm 17,10	49%	Z=1,162 p=0,134
	da	15	28,06 \pm 12,63	45%	
Ca125 (IU/l)	ne	5	21,58 \pm 22,57	105%	Z=0,645 p=0,799
	da	15	14,89 \pm 11,55	78%	

Legenda: ESA = stimulatori eritropoeze; s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; Ca125 = karcinomski antigen 125; CV = koeficijent varijacije

4.2.12 Višestruka regresiona analiza kod bolesnika prevalentne grupe

Kod bolesnika prevalentne grupe sprovedi smo višestruku regresionu analizu uticaja različitih varijabli na koncentracije faktora rasta VEGF i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu pomoću 3 prediktorska modela.

U prvom prediktorskom modelu, procenjivan je uticaj starosti i pola bolesnika, modaliteta dijalize i dužine dijaliznog staža, šećerne bolesti i peritonitisa na koncentracije faktora rasta VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu.

U drugom prediktorskom modelu, procenjivan je uticaj svih varijabli iz prvog modela, kao i kvaliteta dijalize i transportnog statusa na koncentracije faktora rasta VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu.

U trećem prediktorskom modelu, pored svih faktora koji su korišćeni u drugom prediktorskom modelu, procenjivan je uticaj primene stimulatora eritropoeze, ACE inhibitora i statina na koncentracije VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu.

Tabela 45. Multifaktorska analiza uticaja na koncentraciju TGF- β 1 u serumu

	R	sign.
sTGF- β 1 (ng/ml)	1,000	.
pol	0,190	0,068
starost (god.)	-0,106	0,204
modalitet dijalize	0,135	0,146
DM	0,041	0,375
dužina dijaliznog staža (god.)	0,083	0,260
peritonitis	-0,154	0,114
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-0,274	0,015*
uk. ned. Kt/V	-0,038	0,384
PET _{glukoza}	-0,128	0,159
PET _{kreatinin}	0,052	0,342
terapija ESA	0,306	0,007**
terapija ACE inhibitorima	-0,172	0,089
terapija statinima	-0,082	0,261

Legenda: sTGF- β 1 = transfurmišući faktor rasta β 1 u serumu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign. = signifikantnost

Multifaktorska analiza je dokazala neznatne korelacije između koncentracije TGF- β 1 u serumu i pola bolesnika, starosti bolesnika do i preko 65 godina, modaliteta dijalize (kontinuirana dijaliza, ciklična ili automatska peritoneumska dijaliza), postojanja DM, pojave peritonitisa, dužine dijaliznog staža do i preko 5 godina, ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 1,7, PET_{glukoze} i PET_{kreatinina}, terapije ACE inhibitorima i terapije statinima (Tabela 45).

Bolesnici koji su imali ukupni nedeljni ClCr veći od 70 l/ned/m² imali su statistički značajno manje koncentracije TGF- β 1 u serumu (p=0,015) (Tabela 45).

Bolesnici koji su dobijali preparate ESA imali su visoko statistički značajno manje koncentracije TGF- β 1 u serumu (p=0,0007) (Tabela 45).

Tabela 46. Vrednovanje prediktorskog modela za TGF- β 1 u serumu (R²-koeficijent determinacije i ANOVA)

model	R	R ²	Adj. R ²	R ²	F	df1	df2	sign.	Durbin-Watson
I	0,302 ^a	0,091	-0,006	0,091	0,934	6	56	0,478	
II	0,395 ^b	0,156	-0,007	0,065	0,997	4	52	0,417	
III	0,570 ^c	0,325	0,146	0,170	4,107	3	49	0,011	1,909

Legenda: I= prvi model; II = drugi model; III = treći model; R = koeficijent determinacije; R² = koeficijent determinacije; sign. = signifikantnost

U modelima I, II i III je ispitan celokupni uticaj odabranih navedenih nezavisnih varijabli na zavisnu varijablu – u ovom slučaju koncentraciju TGF- β 1 u serumu. Obrada III modela je dokazala da odabrani parametri svi zajedno utiču 32,5% na koncentraciju TGF- β 1 u serumu, a smatra se da je model statistički validan ukoliko je uticaj preko 30%. Zato je III model odabran za dalju obradu u kojoj izabrani parametri deluju međusobno jedni na druge, pored toga što deluju na zavisnu varijablu, i izdvajaju se oni koji imaju najveću snagu uticaja na zavisnu varijablu – koncentraciju TGF- β 1 u serumu, odnosno oni parametri čija je snaga statistički značajno veća u odnosu na snagu (uticaj) ostalih varijabli (Tabela 46).

Tabela 47. Vrednovanje uticaja nezavisnih promenljivih faktora na koncentraciju TGF- β 1 u serumu u trećem odabranom prediktorskom modelu

nezavisna varijabla	nestandardizovani β		st. koef.	t	sign.	95,0%IP	
	β	SE	β			donja	gornja
sTGF- β 1 (ng/ml)	33,74	12,23		2,76	0,008	9,16	58,33
pol	3,19	3,99	0,11	0,80	0,428	-4,83	11,20
starost (god.)	-4,61	3,62	-0,17	-1,27	0,209	-11,89	2,66
modalitet dijalize	1,67	4,96	0,05	0,34	0,738	-8,29	11,63
DM	-0,67	3,65	-0,03	-0,18	0,855	-8,00	6,66
dužina dijal. staža (god.)	9,93	5,31	0,24	1,87	0,048*	-0,75	20,60
peritonitis	-4,86	3,65	-0,18	-1,33	0,190	-12,19	2,48
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-5,56	3,96	-0,20	-1,40	0,167	-13,51	2,40
uk. ned. Kt/V	2,17	5,04	0,06	0,43	0,669	-7,97	12,31
PET _{glukoza}	-5,04	3,93	-0,18	-1,28	0,206	-12,93	2,86
PET _{kreatinin}	-1,04	4,19	-0,04	-0,25	0,805	-9,46	7,38
terapija ESA	12,11	3,75	0,42	3,23	0,002**	19,64	4,59
terapija ACE inhibitorima	-4,86	3,70	-0,16	-1,31	0,195	-12,29	2,58
terapija statinima	-1,17	4,20	-0,04	-0,28	0,782	-9,61	7,27

Legenda: sTGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1 u serumu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; sign. = signifikantnost IP = interval poverljivosti; st.koef. = standardizovani koeficijent; SE = standardna greška

Snaga uticaja svake nezavisne varijable na koncentraciju sTGF- β 1 u trećem prediktorskom modelu je objašnjena standardizovanim β koeficijentom. Najveći uticaj na koncentraciju sTGF- β 1 je imala terapija ESA ($p=0,002$) i dužina dijaliznog staža ($p=0,048$). Ostale nezavisne varijable nisu imale statistički značajan uticaj na koncentraciju sTGF- β 1, a prikazani su standardizovani β koeficijenti svake pojedinačne nezavisne varijable (Tabela 47).

Tabela 48. Multifaktorska analiza uticaja na koncentraciju TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu

	R	sign.
idTGF- β 1 (ng/ml)	1,000	.
pol	0,107	0,202
starost (god.)	-0,151	0,118
modalitet dijalize	-0,239	0,030*
DM	0,146	0,126
dužina dijaliznog staža (god.)	0,045	0,363
peritonitis	-0,149	0,122
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-0,097	0,224
uk. ned. Kt/V	-0,078	0,271
PET _{glukoza}	-0,204	0,049*
PET _{kreatinin}	0,125	0,164
terapija ESA	0,043	0,370
terapija ACE inhibitorima	0,091	0,240
terapija statinima	-0,064	0,309

Legenda: idTGF- β 1 = transfurmišući faktor rasta β 1 u izlivenom dijalizatu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujuć enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign.= signifikantnost

Multifaktorska analiza je dokazala neznatne korelacije između koncentracije idTGF- β 1 i pola bolesnika, starosti bolesnika do i preko 65 godina, postojanja DM, pojave peritonitisa, dužine dijaliznog staža do i preko 5 godina, ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 1,7, ukupnog nedeljnog ClCr do i preko 70 l/ned/m², PET_{kreatinina}, terapije ESA, ACE inhibitorima i statinima (Tabela 48).

Bolesnici koji su lečeni CAPD-om imali su statistički značajno manje koncentracije idTGF- β 1 od bolesnika na cikličnoj ili APD (p=0,030) (Tabela 48).

Bolesnici sa brzim ili srednje-brzim transportnim statusom glukoze imali su značajno veće koncentracije idTGF- β 1 od bolesnika koji su srednje-spori ili spori transporteri za glukozu (p=0,049) (Tabela 48).

Tabela 49. Vrednovanje prediktorskog modela za TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu (R2-koeficijent determinacije i ANOVA)

model	R	R2	Adj. R2	R 2	F	df1	df2	sign.	Durbin-Watson
I	0,327 ^a	0,107	0,011	0,107	1,116	6	56	0,365	
II	0,399 ^b	0,159	-0,003	0,052	0,809	4	52	0,525	
III	0,410 ^c	0,168	-0,050	0,009	0,179	3	49	0,901	1,674

Legenda: I= prvi model; II = drugi model; III = treći model; R = koeficijent determinacije; R2 = koeficijent determinacije; sign.= signifikantnost

Kod trećeg modela R2-koeficijent determinacije objašnjava tek 16,8% varijanse zavisne varijable. ANOVA ne dokazuje validnost odabranog modela, odnosno nulte hipoteze ni kod jednog od tri modela (Tabela 49).

Tabela 50. Vrednovanje uticaja nezavisnih promenljivih faktora na koncentraciju TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu u trećem odabranom prediktorskom modelu

nezavisna varijabla	nestandardizovani β		st.koef.	t	sign.	95,0% IP	
	β	SE	β			donja	gornja
idTGF- β 1 (ng/ml)	1,84	0,54		3,43	0,001	0,76	2,92
pol	0,09	0,18	0,09	0,54	0,595	-0,26	0,45
starost (god.)	-0,08	0,16	-0,07	-0,48	0,633	-0,40	0,24
modalitet dijalize	-0,42	0,22	-0,28	-1,92	0,061	-0,86	0,02
DM	0,09	0,16	0,08	0,54	0,593	-0,24	0,41
dužina dijal. staža (god.)	0,17	0,23	0,10	0,72	0,477	-0,30	0,64
peritonitis	-0,10	0,16	-0,10	-0,65	0,521	-0,43	0,22
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-0,18	0,17	-0,17	-1,06	0,297	-0,53	0,17
uk. ned. Kt/V	-0,08	0,22	-0,06	-0,37	0,714	-0,53	0,36
PET _{glukoza}	-0,17	0,17	-0,16	-1,00	0,321	-0,52	0,17
PET _{kreatinin}	-0,10	0,18	-0,09	-0,53	0,599	-0,47	0,27
terapija ESA	-0,04	0,16	-0,04	-0,27	0,789	-0,37	0,29
terapija ACE inhibitorima	0,09	0,16	0,08	0,57	0,569	-0,23	0,42
terapija statinima	-0,06	0,18	-0,05	-0,33	0,743	-0,43	0,31

Legenda: idTGF- β 1 = transfurmišući faktor rasta β 1 u izlivenom dijalizatu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign.= signifikantnost; IP= interval poverljivosti; st.koef. = standardizovani koeficijent

Uticaj svakog pojedinačnog parametra u trećem prediktorskom modelu, gde su ispitane sve odabrane nezavisne varijable, na koncentraciju idTGF- β 1 objašnjen je standardizovanim β koeficijentom. Nijedan pojedinačni parametar, odnosno nezavisna varijabla, nije imala statistički značajan uticaj na koncentraciju idTGF- β 1 (Tabela 50).

Multifaktorska analiza je dokazala neznatne korelacije između koncentracije sVEGF-a i pola bolesnika, starosti bolesnika do i preko 65 godina, modaliteta dijalize, pojave peritonitisa, dužine dijaliznog staža do i preko 5 godina, ukupnog nedeljnog Kt/V do i preko 1,7, ukupnog nedeljnog ClCr do i preko 70 l/ned/m², terapije ESA, ACE inhibitorima i statinima (Tabela 51).

Statistički značajno veće koncentracije VEGF-a u serumu imali su:

- dijabetičari u odnosu na bolesnike bez šećerne bolesti ($p=0,041$),
- srednje-brzi i brzi transporteri glukoze u odnosu na spore i srednje-spore transportere glukoze ($p=0,049$),
- srednje-brzi i brzi transporteri kreatinina u odnosu na spore i srednje-spore transportere kreatinina ($p=0,049$) (Tabela 51).

Tabela 51. Multifaktorska analiza uticaja na koncentraciju VEGF-a u serumu

	R	sign.
sVEGF (pg/ml)	1,000	.
ol	-0,037	0,387
starost (god.)	-0,065	0,305
modalitet dijalize	-0,145	0,129
DM	0,221	0,041*
dužina dijaliznog staža (god.)	0,121	0,172
peritonitis	-0,149	0,121
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-0,150	0,120
uk. ned. Kt/V	-0,018	0,445
PET _{glukoza}	-0,205	0,049*
PET _{kreatinin}	0,223	0,040*
terapija ESA	0,042	0,371
terapija ACE inhibitorima	0,062	0,314
terapija statinima	0,135	0,146

Legenda: sVEGF = vaskularni endotelni faktor rasta u serumu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign.= signifikantnost

Kod trećeg modela R²-koeficijent determinacije objašnjava tek 18% varijanse zavisne varijable. ANOVA ne dokazuje validnost odabranog modela, odnosno nulte hipoteze ni kod jednog od tri modela (Tabela 52).

Tabela 52. Vrednovanje prediktorskog modela za VEGF u serumu (R²-koeficijent determinacije i ANOVA)

model	R	R ²	Adj. R ²	R ²	F	df1	df2	sign.	Durbin-Watson
I	0,314 ^a	0,099	0,002	0,099	1,023	6	56	0,420	
II	0,404 ^b	0,163	0,002	0,065	1,002	4	52	0,415	
III	0,424 ^c	0,180	-0,038	0,016	0,327	3	49	0,806	1,862

Legenda: I= prvi model; II = drugi model; III = treći model; R = koeficijent determinacije; R² = koeficijent determinacije; sign. = signifikantnost

Uticaj svakog pojedinačnog parametra u trećem prediktorskom modelu, gde su ispitane sve odabrane nezavisne varijable, na koncentraciju sVEGF-a objašnjen je standardizovanim β koeficijentom. Ni jedan pojedinačni parametar, odnosno nezavisna varijabla, nije imala statistički značajan uticaj na koncentraciju sVEGF-a (Tabela 53).

Tabela 53. Vrednovanje uticaja nezavisnih promenljivih faktora na koncentraciju VEGF-a u serumu u trećem odabranom prediktorskom modelu

nezavisna varijabla	nestandardizovani β		st.koef.	t	sign.	95,0% IP	
	β	SE	β			donja	gornja
sVEGF (pg/ml)	292,59	171,10		1,71	0,094	-51,24	636,42
pol	-14,14	55,77	-0,04	-0,25	0,801	-126,21	97,93
starost (god.)	-8,68	50,63	-0,02	-0,17	0,865	-110,43	93,06
modalitet dijalize	-91,18	69,32	-0,19	-1,32	0,195	-230,48	48,12
DM	62,40	51,03	0,18	1,22	0,227	-40,14	164,94
dužina dijal. staža (god.)	83,51	74,29	0,16	1,12	0,266	-65,79	232,80
peritonitis	-30,03	51,05	-0,09	-0,59	0,559	-132,63	72,57
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-77,95	55,36	-0,22	-1,41	0,165	-189,21	33,30
uk. ned. Kt/V	45,71	70,55	0,10	0,65	0,520	-96,07	187,48
PET _{glukoza}	-34,40	54,95	-0,10	-0,63	0,534	-144,82	76,02
PET _{kreatinin}	10,88	58,60	0,03	0,19	0,854	-106,88	128,63
terapija ESA	-22,54	52,38	-0,06	-0,43	0,669	-127,80	82,73
terapija ACE inhibitorima	13,40	51,73	0,03	0,26	0,797	-90,57	117,36
terapija statinima	52,08	58,75	0,13	0,89	0,380	-65,98	170,15

Legenda: sVEGF = vaskularni endotelni faktor rasta u serumu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign.= signifikantnost; IP= interval poverljivosti; st.koef. = standardizovani koeficijent

Multifaktorska analiza je dokazala neznatne korelacije između koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu i pola bolesnika, starosti bolesnika do i preko 65 godina, postojanja DM, pojave peritonitisa, dužine dijaliznog staža do i preko 5 godina, ukupnog nedeljnog ClCr do i preko 70 l/ned/m², PET_{glukoze}, terapije ESA (Tabela 54).

Bolesnici koji su lečeni CAPD-om imali su visoko statistički značajno manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu u odnosu na bolesnike lečene CCPD-om i APD-om (Tabela 54).

Statistički značajno manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu su imali bolesnici koji su imali uk. ned. Kt/V >1,7 (p=0,048) i bolesnici koji su uzimali terapiju ACE inhibitorima (p=0,049) i terapiju statinima (p=0,015), i srednje-spori i spori u odnosu na srednje-brze i brze transportere za kreatinina (p=0,032) (Tabela 54).

Tabela 54. Faktori koji utiču uticaja na koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu (multifaktorska analiza)

	R	sign.
idVEGF (pg/ml)	1,000	.
pol	-0,185	0,073
starost (god.)	-0,077	0,275
modalitet dijalize	-0,332	0,004**
DM	0,133	0,149
dužina dijaliznog staža (god.)	-0,086	0,251
peritonitis	-0,157	0,110
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-0,066	0,303
uk. ned. Kt/V	-0,212	0,048*
PET _{glukoza}	-0,089	0,244
PET _{kreatinin}	0,234	0,032*
terapija ESA	-0,109	0,198
terapija ACE inhibitorima	0,213	0,047*
terapija statinima	0,274	0,015*

Legenda: sVEGF = vaskularni endotelni faktor rasta u serumu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneuskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign. = signifikantnost

Tabela 55. Vrednovanje prediktorskog modela za VEGF u izlivenom dijalizatu (R²-koeficijent determinacije i ANOVA)

model	R	R ²	Adj. R ²	R ²	F	df1	df2	sign.	Durbin-Watson
I	0,427 ^a	0,182	0,094	0,182	2,075	6	56	0,071	
II	0,493 ^b	0,243	0,097	0,061	1,047	4	52	0,392	
III	0,590 ^c	0,348	0,175	0,105	2,635	3	49	0,050	1,822

Legenda: R = koeficijent determinacije; R² = koeficijent determinacije; sign.= signifikantnost

R²-koeficijent determinacije kod trećeg modela objašnjava 34,8% varijanse zavisne varijable idVEGF. Validnost odabranog modela, odnosno nulte hipoteze kod trećeg modela, gde su uključene sve odabrane varijable, odnosno nezavisne promenljive, dokazuje ANOVA test (Tabela 55).

Uticaj svakog pojedinačnog parametra u trećem prediktorskom modelu, gde su ispitane sve odabrane nezavisne varijable, na koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu objašnjen je standardizovanim β koeficijentom. Bolesnici mlađi od 65 godina imali su visoko statistički značajno veće koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu u odnosu na starije od 65 godine ($p=0,008$). Bolesnici koji su uzimali ACE inhibitore imali su statistički značajno manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu od bolesnika koji nisu uzimali ove lekove ($p=0,044$) (Tabela 56).

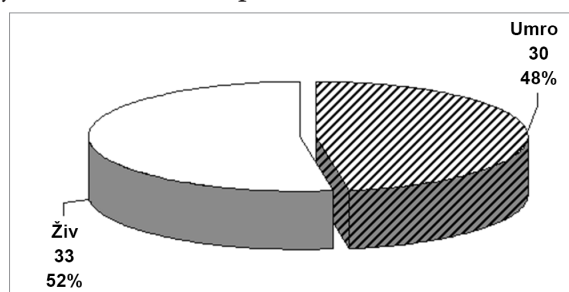
Tabela 56. Vrednovanje uticaja nezavisnih promenljivih faktora na koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu u trećem odabranom prediktorskom modelu

nezavisna varijabla	nestandardizovani β		st.koef.	t	sign.	95,0% IP	
	β	SE	β			Donja	Gornja
idVEGF (pg/ml)	0,87	14,12	0,01	0,06	0,951	-27,49	29,24
pol	-2,06	12,82	-0,02	-0,16	0,873	-27,81	23,70
starost (god.)	-48,72	17,55	-0,36	-2,78	0,008**	-83,99	-13,46
modalitet dijalize	9,16	12,92	0,09	0,71	0,482	-16,80	35,11
DM	-0,45	18,81	0,00	-0,02	0,981	-38,24	37,35
dužina dijal. staža (god.)	-6,67	12,92	-0,07	-0,52	0,608	-32,64	19,30
peritonitis	-10,29	14,01	-0,10	-0,73	0,466	-38,45	17,88
uk. ned. ClCr (l/ned/m ²)	-19,52	17,86	-0,15	-1,09	0,280	-55,40	16,37
uk. ned. Kt/V	13,64	13,91	0,14	0,98	0,332	-14,31	41,59
PET _{glukoza}	18,77	14,83	0,19	1,27	0,212	-11,04	48,58
PET _{kreatinin}	-17,11	13,26	-0,17	-1,29	0,203	-43,75	9,54
terapija ESA	20,49	13,10	0,19	1,57	0,124	-5,83	46,81
terapija ACE inhibitorima	30,80	14,87	0,28	2,07	0,044*	0,92	60,69
terapija statinima	0,87	14,12	0,01	0,06	0,951	-27,49	29,24

Legenda: idVEGF = vaskularni endotelni faktor rasta u izlivenom dijalizatu; god. = godine; DM = *diabetes mellitus*; uk. ned. = ukupni nedeljni; ClCr = klirens kreatinina; PET = test peritoneumskog ekvilibrijuma; ESA = stimulatori eritropoeze; ACE = angiotenzin-konvertujući enzim; R = koeficijent varijacije u multifaktorskoj analizi; sign.= signifikantnost; IP= interval poverljivosti; st.koef. = standardizovani koeficijent

4.2.13 Ishod bolesnika u prevalentnoj grupi

Ishod je ispitivan u prevalentnoj grupi bolesnika koji su različito vreme proveli na hroničnom programu PD i koji su nastavili lečenje peritoneumskim dijalizama, ili su prevedeni na hronično lečenje hemodijalizama, ili su umrli. U prevalentnoj grupi preživelo je 33 (52%) od ukupno 63 bolesnika (Grafikon 45).



Grafikon 45. Preživljavanje bolesnika u prevalentnoj grupi

Tabela 57. Prosečna dužina dijaliznog staža kod umrlih i preživelih bolesnika prevalentne grupe

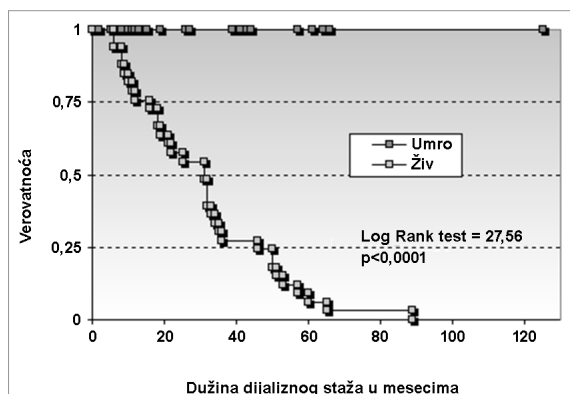
	N	prosek	SD	95% IP		min.	max.
				donja	gornja		
umro	30	28,80	27,50	18,53	39,07	1	125
živ	33	31,09	20,03	23,99	38,19	6	89
ukupno	63	30,00	23,71	24,03	35,97	1	125

Legenda: N = broj; SD = standardna devijacija; IP = interval poverljivosti; min. = minimalno; max. = maksimalno

U grupi prevalentnih bolesnika prosečna dužina staža dijalize bila je $28,8 \pm 27,5$ meseci kod 30 umrlih, a $31,09 \pm 20,3$ meseci kod 33 živa bolesnika (Tabela 57).

U ovoj grupi: 96,7% preživljava prvih 6 meseci lečenja hroničnim PD-om, 90% (59 bolesnika) 12 meseci, 83,9% (40 bolesnika) 24 meseca, 70,6% (27 bolesnika) 36 meseci, 46,9% (15 bolesnika) 48 meseci i 20,1% (4 bolesnika) 60 meseci (Grafikon 46).

Verovatnoća preživljavanja bolesnika posle 12 meseci opada na 79%, posle 24 meseca na 58%, posle 36 odnosno 48 meseci na oko 32%, a posle 60 meseci iznosi oko 15% (Grafikon 46).



Grafikon 46. Verovatnoća praćenja bolesnika u prevalentnoj grupi u odnosu na dužinu dijaliznog staža i ishod lečenja

Koncentracije VEGF i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu kod bolesnika prevalentne grupe koji su umrli i kod onih koji su bili živi nemaju normalnu distribuciju (CV > 30%). Ispitivani parametri su analizirani neparametrijskim testovima (Tabela 58).

Tabela 58. Koncentracije VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu u prevalentnoj grupi u odnosu na ishod bolesnika

		N	prosek	SD	min.	max.	Z test, p
sTGF- β 1 (ng/ml)	umro	30	27,86	12,85	13,30	63,70	Z=1,204 p=0,229
	živ	33	31,45	14,44	9,10	62,30	
	ukupno	63	29,74	13,71	9,10	63,70	
idTGF- β 1 (ng/ml)	umro	30	1,03	0,65	0,65	3,27	Z=0,280 p=0,779
	živ	33	0,99	0,44	0,65	1,86	
	ukupno	63	1,01	0,54	0,65	3,27	
sVEGF (pg/ml)	umro	30	275,63	197,79	15,60	958,92	Z=2,003 p=0,045
	živ	33	192,04	140,41	15,60	645,10	
	ukupno	63	231,84	173,91	15,60	958,92	
idVEGF (pg/ml)	umro	30	35,36	43,23	15,60	197,20	Z=0,509 p=0,611
	živ	33	41,15	54,91	15,60	223,80	
	ukupno	63	38,39	49,38	15,60	223,80	

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; Z = Z test

Kod bolesnika sa smrtnim ishodom koncentracija sTGF- β 1 je manja, dok je u izlivenom dijalizatu veća, ali ne statistički značajno (Tabela 58).

Kod bolesnika koji su umrli koncentracija sVEGF-a je bila statistički značajno veća, $p < 0,045$, a idVEGF je manja, ali ne statistički značajno (Tabela 46).

U grupi prevalentnih bolesnika prosečna dužina staža na dijalizi 26 osoba, koje su ostale na lečenju hroničnim programom PD, bila je $26,31 \pm 27,5$ meseci. Kod 7 bolesnika koji su prevedeni na hronični program HD, prosečna dužina lečenja peritoneumskim dijalizama bila je $48,86 \pm 20,7$ meseci pre zamene metode dijalize (Tabela 59).

Tabela 59. Prosečna dužina dijaliznog staža bolesnika koji su ostali na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama (PD) i bolesnika prevedenih na hronični program hemodijalize (HD)

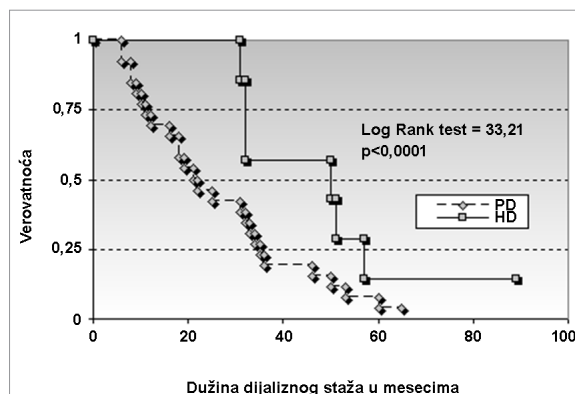
	N	prosek	SD	95% IP		min.	max.
				donja	gornja		
živ, PD	26	26,31	17,28	19,33	33,29	6	65
živ, HD	7	48,86	20,70	29,71	68,00	31	89
ukupno	33	31,09	20,03	23,99	38,19	6	89

Legenda: SD = standardna devijacija; IP = interval poverljivosti

U prevalentnoj grupi: posle 6 meseci 92,3% bolesnika su živi i leče se PD, posle 12 meseci 73% bolesnika, posle 24 meseca 46% bolesnika, posle 36, odnosno 48 meseci oko 20% bolesnika, posle 60 meseci, odnosno 5 godina, 8% bolesnika je živo i leči se PD (Grafikon 47).

Verovatnoća preživljavanja bolesnika koji su prevedeni na hronični program HD bila je 100% posle 24 meseca, 86% posle 36 i 48 meseci, 15% posle 60 meseci (Grafikon 47).

Dokazana je statistički značajna razlika u preživljavanju bolesnika koji su prevedeni na hronični program HD (LogRank test =33,21, $p < 0,001$), koji se značajno duže prate (Grafikon 47).



Grafikon 47. Dužina dijaliznog staža bolesnika u prevalentnoj grupi koji su nastavili lečenje peritoneumskim dijalizama i onih koji su prevedeni na hronični program hemodijalize

Koncentracija TGF- β 1 u serumu je najmanja kod bolesnika sa smrtnim ishodom ali ne statistički značajno između umrlih i živih na PD i /ili HD (Tabela 60).

Tabela 60. Koncentracije VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu u prevalentnoj grupi bolesnika u odnosu na ishod

		N	prosek	SD	min.	max.	Z test, p		
							umrli vs živi na PD	umrli vs živi na HD	HD vs PD
sTGF- β 1 (ng/ml)	umro	30	27,86	12,85	13,30	63,70	0,388	0,185	0,45
	PD	26	30,66	14,72	9,10	62,30			
	HD	7	34,39	13,98	14,02	57,70			
	ukupno	63	29,74	13,71	9,10	63,70			
idTGF- β 1 (ng/ml)	umro	30	1,03	0,65	0,65	3,27	0,392	0,276	0,09
	PD	26	1,06	0,46	0,65	1,86			
	HD	7	0,71	0,15	0,65	1,06			
	ukupno	63	1,01	0,54	0,65	3,27			
sVEGF (pg/ml)	umro	30	275,63	197,79	15,60	958,92	0,203	p=0,007*	p=0,016*
	PD	26	216,49	143,08	15,60	645,10			
	HD	7	101,21	87,36	15,60	223,80			
	ukupno	63	231,84	173,91	15,60	958,92			
idVEGF (pg/ml)	umro	30	35,36	43,23	15,60	197,20	0,321	0,435	0,183
	PD	26	47,21	60,53	15,60	223,80			
	HD	7	18,67	8,12	15,60	37,08			
	ukupno	63	38,39	49,38	15,60	223,80			

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; PD = peritoneumska dijaliza; HD = hemodijaliza

Koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu je najveća kod bolesnika koji su ostali na lečenju peritoneumskim dijalizama, ali ne statistički značajno u odnosu na koncentraciju TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu bolesnika koji su prevedeni na hronični program HD i bolesnika koji su umrli (Tabela 60). Koncentracija VEGF-a u serumu kod bolesnika prevalentne grupe je statistički značajno najveća kod umrlih, značajno veća kod umrlih u odnosu na bolesnike prevedene na HD (Tabela 60, $p=0,007$) i značajno veća kod bolesnika na PD u odnosu na bolesnike koji su sa PD prevedeni na HD (Tabela 60, $p<0,016$).

Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu je najveća u bolesnika na PD, ali ne statistički značajno u odnosu na umrle i na bolesnike prevedene na HD (Tabela 60).

Senzitivnost i specifičnost koncentracija faktora rasta VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu za ishod bolesnika prevalentne grupe prikazana je ROC krivom (Tabela 61, Grafikon 48).

Tabela 61. Senzitivnost i specifičnost koncentracija faktora rasta VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu za ishod bolesnika prevalentne grupe

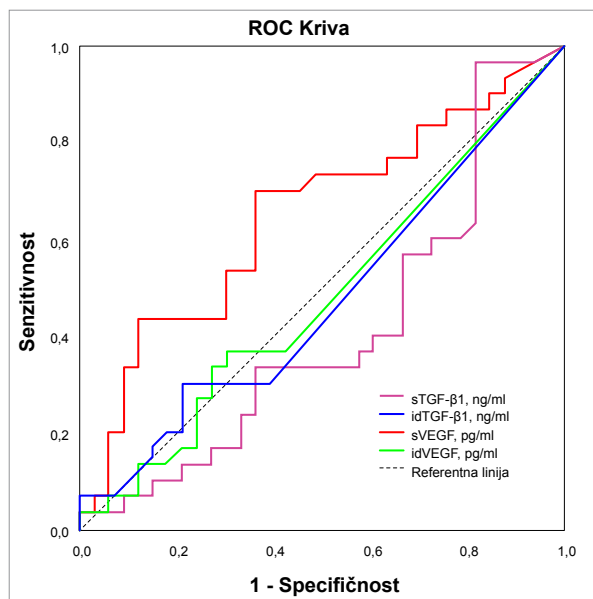
varijable	area	SE	Asymptotic sign. ^b	95% IP	
				Donja	Gornja
sTGF- β 1 (ng/ml)	0,412	0,073	0,229	0,268	0,556
idTGF- β 1 (ng/ml)	0,482	0,074	0,804	0,338	0,626
sVEGF (pg/ml)	0,647	0,071	0,045*	0,508	0,786
idVEGF (pg/ml)	0,468	0,074	0,665	0,324	0,612

Legenda: s = koncentracija u serumu; id = koncentracija u izlivenom dijalizatu; VEGF = faktor rasta vaskularnog endotela; TGF- β 1 = transformišući faktor rasta β 1; IP = interval poverljivosti

Za bolesnike sa smrtnim ishodom dokazana je statistički značajno veća površina pod ROC krivom (area=0,647, $p=0,045$) za koncentraciju VEGF-a u serumu u odnosu na žive bolesnike koji su ostali na hroničnom lečenju PD ili bolesnike koji su prevedeni na lečenja HD (30 umrlih bolesnika vs 33 živa na PD/HD) (Tabela 61, Grafikon 48).

Koncentracije VEGF-a u serumu između 203,70 pg/ml i 211,60 pg/ml imaju senzitivnost oko 70% i specifičnost od 58% do 65,6% za smrtni ishod bolesnika: bolesnici prevalentne grupe sa navedenim koncentracijama VEGF-a u serumu imali su najlošiji ishod u našem ispitivanju (Tabela 61, Grafikon 48).

Koncentracije TGF- β 1 u serumu i u dijalizatu i VEGF-a u izlivenom dijalizatu nemaju značajnu specifičnost i senzitivnost za ishod bolesnika (Tabela 61, Grafikon 48).



Grafikon 48. Senzitivnost i specifičnost koncentracija faktora rasta VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu za ishod bolesnika prevalentne grupe

5

DISKUSIJA

5.1 EKSPERIMENTALNI MODEL

5.1.1 Hronični ne-uremijski instilacioni eksperimentalni model peritoneumske dijalize

Animalni modeli su jako važni za razumevanje strukture i fiziologije trbušne maramice i funkcionalnih poremećaja na dugotrajnoj peritoneumskoj dijalizi. *In vivo* studije na eksperimentalnim modelima omogućavaju ispitivanje promena trbušne maramice pod dejstvom dijaliznih rastvora u uslovima koji blisko imitiraju kliničke uslove (98, 102). Histološka struktura trbušne maramice i promene posle izlaganja dijaliznim rastvorima kod različitih životinja slične su onima u humanoj patologiji, što opravdava upoređivanja između različitih vrsta. U eksperimentalnim modelima na životinjama morfološke promene se javljaju posle mnogo kratkotrajnijeg izlaganja dijaliznim rastvorima zbog razlika u prosečnoj dužini životnog veka (100, 101). Izlaganje dijaliznim rastvorima u eksperimentalnim modelima PD traje 6 do 12 sedmica ukoliko se radi sa pacovima (104), odnosno 4 ili više sedmica ako se radi sa zečevima (103, 105). Štetno dejstvo standardnih rastvora za peritoneumsku dijalizu na sve tipove ćelija dokazano je u *in vivo* uslovima (103, 105).

Opisano je mnoštvo eksperimentalnih modela peritoneumske dijalize. Ne postoji konsenzus o pristupu i metodologiji, kao ni idealni eksperimentalni model peritoneumske dijalize (99,100).

Pacovi i zečevi su najčešće upotrebljavani u eksperimentalnoj PD. Pacovi su jeftini i lako se razmnožavaju. Ograničenja eksperimentalnog modela su posledica fiziologije glodara, npr. visoka koncentracija amilaza u serumu pacova je praćena visokom intraperitoneumskom koncentracijom amilaza. S obzirom da amilaze uzrokuju intraperitoneumsku degradaciju ikodekstrina sa povećanjem osmolarnosti dijalizne tečnosti, pacov nije pogodan model za ispitivanje delovanja ikodekstrina (98).

Zečevi preživljavaju duže od pacova na dijalizi i istraživači navode gubitak od 40% tokom 6 meseci, pri čemu je vodeći uzrok smrtnosti peritonitis (103). U studiji na pacovima uginulo je 38% ne-uremičnih životinja tokom 6 nedelja instilacije dijaliznog rastvora; u uremičnoj grupi 27% je izbačeno iz protokola već na početku ispitivanja zbog previsokih vrednosti uree i kreatinina u serumu (više nego trostruke u odnosu

na normalne vrednosti) i smrtnost je bila 48% tokom 6 sedmica izlaganja dijaliznim rastvorima (22).

U našoj studiji, ukupno 64,5% eksperimentalnih životinja je završilo petonedeljni period praćenja, sa stopom preživljavanja 85%, te možemo zaključiti da je ishod bio vrlo zadovoljavajući u odnosu na podatke iz literature (88, 102, 103, 104, 105).

Odnos između površine peritoneuma i volumena izmene dijalizne tečnosti je sličan kod zečeva i u humanoj populaciji, što je takođe uticalo na izbor ove vrste životinje u eksperimentalnoj studiji (99, 101, 103). Na žalost, zečevi su nežne životinje i teško se odgajaju (105).

Da bismo ispitali promene trbušne maramice u toku hronične PD, u našoj studiji korišćen je modifikovani eksperimentalni hronični ne-uremijski instilacioni model PD na zecu (99, 105). Životinje sa očuvanom funkcijom bubrega se lakše gaje i stope preživljavanja su više u odnosu na uremične životinje (79, 80). Inače, životinje sa normalnom bubrežnom funkcijom i instilacioni model PD su prihvaćeni za ispitivanje dejstva dijaliznih rastvora na peritoneumsko tkivo (88, 99, 102). Odluka za korišćenje zeca kao eksperimentalne životinje u našoj studiji doneta je zbog načina održavanja i hranjenja i zbog dostupnosti hirurškog materijala za izvođenje procedura implantacije i odstranjivanja peritoneumskog katetera u ovoj životinjskoj vrsti. Implantacija katetera za peritoneumsku dijalizu bila je modifikovana verzija procedure opisane u literaturi (103, 104, 105, 112).

Većina autora posle implantacije katetera omogućava zarastanje rane tokom jedne (88, 104, 105) do 2 nedelje (103). Mi smo čekali da rana zaraste nedelju dana. Taj period je prošao bez infekcije rana i zatim su se izmene obavljale bez problema

Autori primenjuju različite načine instilacije dijalizata u eksperimentalnim studijama: direktno u trbušnu duplju, preko minijaturnih fabrički napravljenih katetera za PD (88, 102, 103, 104), ili preko stalnog katetera kroz potkožni tunel između trbušne duplje i vrata eksperimentalne životinje (99, 102).

Pošto nismo imali fabrički napravljen kateter za PD za eksperimentalne životinje, u radu smo kao peritoneumski kateter koristili deo infuzionog sistema, što se pokazalo kao dobra opcija. Životinje su dobro podnosile kateter i nije dolazilo do razvoja infekcije. Dijalizat je lako ulivan, a bilo je moguće i njegovo izlivanje, što bi omogućilo ispitivanje funkcije trbušne maramice u daljim studijama. Posebna prednost u ovom modelu je bilo to što su životinje slobodne i budne, slobodno su se hranile i uzimale tečnost, dobro su podnosile sve procedure i dobijale su na težini tokom celog perioda praćenja (105). Telesna masa eksperimentalnih životinja bila je 2739 ± 388 g na početku studije i porasla je tokom praćenja (Grafikon 2).

Opstrukcija katetera i infekcija su najčešći tehnički problemi u hroničnim eksperimentalnim modelima PD (99).

Tokom petonedeljnog praćenja u našoj studiji kod 11 zečeva nije bilo opstrukcija katetera. Prevencija opstrukcije katetera u eksperimentalnim modelima PD obično se vrši davanjem heparina ili omentektomijom (99, 110, 111). Primena heparina, pored željenih efekata, praćena je i brojnim neželjenim dejstvima, kao što je modulacija aktivnosti inflamatornih ćelija i stimulacija proliferacije ćelija, sinteze ekstraćelijskog matriksa i neoangiogeneze (110, 111). I pored poznavanja navedenih neželjenih dejstava, odlučili smo se da primenimo heparin intraperitoneumski da bismo izbegli eventualnu potrebu za omentektomijom. Primena heparina u animalnim modelima odgovara kliničkoj praksi heparinizacije kod opstruktivnih malfunkcija peritoneumskog katetera. Upotreba hepariniziranih peritoneumskih katetera je ipak metoda izbora u eksperimentalnim modelima PD (110, 111).

U različitim eksperimentalnim modelima instilacije dijalizata se vrše jednom do više puta dnevno (88, 103, 104). Izgleda da je obim morfofunkcionalnih promena peritoneumske membrane u toku dugotrajne PD u korelaciji sa učestalošću instilacija pre nego sa dužinom primene dijaliza (103). Količina dijalizata ubrizganog prilikom pojedinačne izmene je 10 do 20 ml kod pacova (88, 104) i oko 30 ml/kg TT kod zečeva (103). U našoj studiji primenjivali smo nešto veću maksimalnu dozu dijalizata - 40 ml/kg telesne mase, ali sa početnom ukupnom dozom od 60 ml i postepenim povećanjem po 10 ml dnevno do ukupne doze dijalizata od 40 ml/kg da bismo izbegli respiratorne smetnje kod životinja (105).

Druga najčešća komplikacija u eksperimentalnim modelima PD je pojava peritonitisa. Ne postoji konsenzus oko kriterijuma za dijagnozu peritonitisa u eksperimentalnim životinjama. Najčešće se dijagnoza peritonitisa postavlja na osnovu pozitivne kulture i prisustva više od 1000 leukocita/ml dijalizata (99, 109). Razvoj peritonitisa je sumnjiv ukoliko se registruje gubitak telesne težine veći od 5% dnevno, povišena telesna temperatura i/ili proliv. Različiti su protokoli prevencije i lečenja peritonitisa (109). Rezultati eksperimentalnih studija podržavaju profilaktičku primenu antibiotika tokom cele studije. U našem eksperimentalnom modelu profilaktična primena cefuroksima efikasno je sprečila razvoj peritonitisa kod ispitivanih zečeva. Samo jedan zec je razvio kliničke znake intraperitoneumske infekcije: dijareja i telesna temperatura preko 39° (Grafikon 1). Zec je izgubio na težini samo 100 g tokom 24 sta, što je iznosilo manje od 5% od ukupne telesne mase. Eksperimentalna životinja je dobila cefuroksim intraperitonealno i gentamicin intramuskularno tokom 7 dana, telesna temperatura se ubrzo normalizovala (Grafikon 1) i dijareja je nestala nakon 3 dana primene antibiotika.

Opisani eksperimentalni ne-uremijski hronični instilacioni model PD je relativno jeftin, ne zahteva sofisticiranu tehnologiju i životinje ga dobro podnose. Komplikacije ovog modela, kao što su curenje dijalizne tečnosti i pojava opstipacije su neznatne. Model je reproducibilan i može se koristiti za ispitivanje delovanja različitih dijaliznih rastvora na trbušnu maramicu zečeva.

Peritoneum je izrazito osetljiv na mehaničku iritaciju i druge faktore spoljne sredine, te su u našoj studiji uzorci za histološku analizu peritoneumske membrane uzimani jako pažljivo. Ukoliko se biopsija trbušne maramice vrši pred završetak hirurške intervencije, dobijaju se brojni artefakti. Blag dodir hirurškom rukavicom može da izazove abraziju tkiva, mezotel reaguje krvavljenjem i eksudacijom plazme na ivici rane, a hirurški instrumenti lako izazivaju ultrastrukturne promene. Izlaganje tkiva vazduhu samo 10 minuta tokom intervencije stvara značajne promene u ultrastrukтури ćelija, a posle svega 20-25 minuta dolazi do nekroze (105).

Većina istraživača žrtvuje životinje posle perioda izlaganja dijaliznim rastvorima eutanazijom prekomernim dozama pentobarbital-natrijuma (104). Žrtvovanje životinja omogućava uzimanje uzoraka za biopsiju sa različitih delova trbušne maramice (104). Pojedini autori vrše *in vivo* fiksaciju tkiva trbušne maramice da bi izbegli artefakte i oštećenja posle otvaranja trbušne duplje i tokom hirurške intervencije. Životinje se žrtvuju tako što se istovremeno ubrizgava 20 ml 2% rastvora glutraldehida puferovanog sa 0,2 M natrijum-kokodilata u perifernu venu zeca i 30 ml/kg u trbušnu duplju zeca kroz peritoneumski kateter. Smrt eksperimentalne životinje je trenutna, a celokupna trbušna duplja i okolna tkiva su fiksirana pre hirurške disekcije i izlaganja vazduhu (103, 104).

U našoj studiji, zečevi nisu žrtvovani, a uzorci tkiva peritoneuma uzimani su pažljivo neposredno posle otvaranja trbušne duplje pri hirurškoj proceduri plasiranja i uklanjanja peritoneumskog katetera, daleko od mesta plasiranja katetera. Dobijeni su adekvatni uzorci tkiva za dalju histološku analizu (Slike 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22).

Uzimanje uzoraka tkiva pre i posle izlaganja dijaliznom rastvoru omogućilo je upoređivanje promena nastalih usled izlaganja dijaliznim rastvorima sa normalnim karakteristikama peritoneumske membrane kod istih životinja.

5.1.2 Histološki nalazi peritoneumske membrane u hroničnom ne-uremijskom instilacionom eksperimentalnom modelu peritoneumske dijalize

Histološki nalazi peritoneumske membrane u hroničnom ne-uremijskom instilacionom eksperimentalnom modelu peritoneumske dijalize

Mezotelne ćelije su pljosnate ili kockaste specijalizovane epitelne ćelije koje ograničavaju unutrašnje organe i peritoneumsku, perikardnu, pleuralnu i sinovijalnu duplju (6, 9). Oblik mezotelnih ćelija zečeva u našoj studiji, pre izlaganja dijaliznom rastvoru, odgovara opisu u literaturi. Luminalna površina mezotelnih ćelija obiluje prstolikim produžecima – mikrovilima, koji povećavaju površinu razmene vode i rastvorenih materija između peritoneumske duplje i citoplazme mezotelnih ćelija i koji opstaju i tokom izlaganja dijaliznim rastvorima (106, 112, 113).

Broj pinocitoznih vezikula, koje su uobičajeno prisutne u apikalnim delovima mezotelnih ćelija, višestruko se povećava posle izlaganja dijaliznim rastvorima. Apikalna površina mezotelnih ćelija takođe nosi mikrociliju i citoskelet koji formiraju vimentinska i citokeratinska vlakna. Dobro razvijen *Golgi*-jev aparat, brojne perinuklearne mitohondrije, granulirani endoplazmin retikulum, ribozomi i euhromatska jedra ukazuju na intenzivnu biosintetsku aktivnost mezotelnih ćelija, koja je, sudeći po zastupljenosti subcelularnih organela, intenzivnija posle izlaganja dijaliznom rastvoru (7, 9, 22, 106, 112, 113, 115).

Većina autora u eksperimentalnim studijama PD koristi semikvantitativne metode histološke analize: jedan ili 2 eksperta subjektivno procenjuju prisustvo ili odsustvo promena i eventualno obim promena. Semikvantitativne metode imaju svoja ograničenja. Tako pojedinačne promene, npr. kuboidna transformacija oblika mezotelnih ćelija ili submezotelni edem, mogu da se procene kao prisutne ili odsutne. Histološke promene mogu se i kvantifikovati, mada su evidentne razlike između ispitivača (103, 105). Mi smo se koristili semikvantitativnom analizom i naši nalazi histoloških izmena peritoneumske membrane posle izlaganja dijaliznim rastvorima odgovaraju nalazima drugih istraživača (67, 106, 112, 113, 115).

Submezotelno tkivo trbušne maramice čini ekstraćeljski matriks zajedno sa fibroblastima i drugim ćelijama (makrofagi, mastociti, leukociti i multipotentne ćelije). Vaskularne strukture i limfni sudovi se nalaze u subseroznom prostoru. Fibroblasti se aktiviraju tokom peritoneumskih izmena i povećavaju sintezu kolagena, koji se može naći u debelim snopovima u submezotelnom tkivu (7, 9, 22).

Ne postoji standardizovana metodologija merenja debljine trbušne maramice kod eksperimentalnih životinja i različite metode daju različite rezultate (22, 67, 104, 114).

Bojenja tkiva za procenu debljine trbušne maramice obavljaju se *Van Giesen* metodom (22, 67). *PicoSirius* crvena se koristi za bojenje kolagenih vlakana (130).

Procena stepena fibroze peritoneuma može da bude semikvantitativna: odsustvo fibroze, blaga fibroza, umerena fibroza, značajno umnožavanje kolagenih vlakana (130). Takođe se može meriti i debljina submezotelnog tkiva (22, 67, 104, 114).

Grupa autora je uzimala uzorke celokupnog trbušnog zida (sa izuzetkom kože) žrtvovanih ne-uremičnih pacova, koji su prethodno izlagani svakodnevnom instilacijama fiziološkog rastvora ili dijaliznim rastvorima sa visokom koncentracijom glukoze (3,86%) i sa dodatkom inhibitora angiotenzin-konvertujućeg enzima ili oktretida, tokom 4 do 8 nedelja. Uzorci su sečeni longitudinalno i horizontalno, fiksirani su u formalinu i obrađeni za optičko-mikroskopsku analizu. Histopatološki presek je projektovan na ekran računara, a debljina peritoneumskog tkiva i submezotelnog tkiva procenjivana je pomoću kompjuterskog programa. Nađena je debljina trbušne maramice od $91 \pm 8 \mu\text{m}$ u uzdužnim i $75 \pm 7 \mu\text{m}$ u poprečnim presecima, dok je površina submezotelnog tkiva iznosila $47,762 \pm 4,375 \mu\text{m}^2$ u uzdužnim i $40,389 \pm 3,631 \mu\text{m}^2$ u poprečnim presecima. Dokazana je korelacija između debljine trbušne maramice i površine submezotelnog tkiva, ali nije postojala korelacija između ova dva parametra i gustine i oblika mezotelnih ćelija, obima fibroze, niti vaskularizacije peritoneuma (114).

Dokazana je takođe značajna razlika debljine peritoneumske membrane ne-uremičnih pacova koji su svakodnevno izlagani instilacijama fiziološkog rastvora u odnosu na životinje koje su svakodnevno izlagane instilacijama dijalizata sa visokom koncentracijom glukoze (3,86%) tokom 6 sedmica (104).

Ispitivane su karakteristike submezotelnog tkiva peritoneuma uremičnih i ne-uremičnih pacova, koji su 6 sedmica izlagani konvencionalnim dijaliznim rastvorima u odnosu na kontrolne grupe uremičnih i ne-uremičnih pacova, koji su podvrgnuti intervenciji plasiranja peritoneumskog katetera bez primene dijalizata, i izmerena je debljina submezotelnog tkiva. Ona je iznosila 57 do 52 μm u dijaliziranim grupama u odnosu na 29 do 26 μm u kontrolnim grupama (22).

Dalja ispitivanja su vršena primenom različitih vrsta dijalizata kod uremičnih pacova tokom 10 nedelja i nađena je prosečna debljina peritoneuma od 31,7 μm posle izlaganja konvencionalnim rastvorima sa visokom koncentracijom glukoze (3,86%), 27,1 μm posle izlaganja konvencionalnim filtrovanim rastvorima (kiseli pH, snižen sadržaj GDP), 30,3 μm posle izlaganja puferovanim rastvorima (nizak sadržaj GDP, neutralni pH) i 25,7 μm u kontrolnoj grupi uremičnih životinja koje nisu izlagane dijaliznom rastvoru (67).

U našoj studiji semikvantitativna histološka analiza uzoraka trbušne maramice zečeva posle izlaganja dijaliznoj tečnosti potvrdila je značajnu fibrozu, jer su u submezotelnom tkivu nađeni brojni fibroblasti okruženi debelim snopovima kolagenih vlakana raspoređenih u različitim pravcima (Slike 19 i 21). U citoplazmi fibroblasta prisutna su euhromatična jedra i brojne sekretorne granule, vezikule i mitohondrije (106, 112, 113).

Peritoneum je relativno slabo vaskularizovan, krvni sudovi su na malo udaljenosti od mezotela (od nekoliko do 100 μm), a najbolje je prokrvljen deo peritoneuma oko jetre. Normalno je samo 25-50% kapilara peritoneuma perfundovano. Otvaranje novih kapilara povećava gustinu perfundovanih kapilara i efektivnu površinu razmene materija. Metabolička aktivnost, vazoaktivni lekovi i dijalizna tečnost uzrokuju otvaranje novih kapilara (104, 106, 107).

Krvni sudovi trbušne maramice ispituju se morfometrijskim metodama (140, 141), intravitalnom mikroskopijom (129, 139) ili primenom monoklonskih antitela na endotelne ćelije miša, anti-CD31 (*pan-endothelial cell antigen mouse/monoclonal antibody*, PECAM-1) (130).

Metode intravitalne mikroskopije su dokazale značajnu vazodilataciju mezenteričnih arterija prilikom lokalne aplikacije acetilholina, nitroglicerina, verapamila, papaverina i konvencionalnog rastvora sa koncentracijom glukoze 4,25%, bez ikakvog pratećeg uticaja na sistemski krvni pritisak (107,88% do 120,40%). Vazodilatacija perzistira tokom izlaganja lekovima ili dijalizatu, a lumeni krvnih sudova se brzo sužavaju na početne veličine, neposredno posle uklanjanja lekova ili dijalizata. Protok kroz arteriole se povećava za $94,3 \pm 12,2\%$ kad se peritoneum izloži dijaliznom rastvoru sa koncentracijom glukoze 4,25% i za $53,3 \pm 5,5\%$ kad se peritoneum izloži dijaliznom rastvoru sa koncentracijom glukoze 1,5%. Izlaganje rastvoru sa najvećom koncentracijom glukoze povećava broj perfundovanih kapilara za $21,9 \pm 4,4\%$. Dijalizni rastvori sa neutralnim pH i niskom koncentracijom degradacionih proizvoda glukoze uzrokuju manje obimnu i kratkotrajnu vazodilataciju i prolazne blaže promene mikrocirkulacije u trbušnoj opni (129).

Analiza anti-CD31 antitelima ukazala je na značajnu neovaskularizaciju omentuma, mezenterijuma i parijetalnog peritoneuma ne-uremičnih i uremičnih pacova izlaganih različitim vrstama dijaliznih rastvora tokom 10 do 16 sedmica (67, 130). Analizirana je gustina krvnih sudova u uzorcima trbušne maramice uremičnih i ne-uremičnih pacova koji su izlagani konvencionalnim dijaliznim rastvorima tokom 6 sedmica u odnosu na uremičnu i ne-uremičnu grupu koja nije dijalizirana, i nađena je gustina krvnih sudova: $629,5-740/\text{cm}^2$ u grupi uremičnih životinja koje su dijalizirane;

548,5-602,5/cm² u grupi ne-uremičnih životinja koje su dijalizirane; 251-429/cm² u grupi uremičnih životinja koje nisu dijalizirane; 2-29/cm² u grupi ne-uremičnih životinja koje nisu dijalizirane (22).

U našoj eksperimentalnoj studiji, morfometrijska analiza krvnih sudova peritoneumske membrane je dokazala značajne razlike između krvnih sudova pre i posle izlaganja dijaliznoj tešnosti. Nađeno je smanjenje unutrašnje i spoljašnje površine transverzalno presečenih krvnih sudova, njihovog unutrašnjeg i spoljašnjeg dijametra i njihovih zidova posle izlaganja dijaliznim rastvorima. Nađena je povećana gustina krvnih sudova posle izlaganja dijalizatu. Procenat površine tkiva prekriven krvnim sudovima bio je manji posle izlaganja dijaliznim rastvorima u odnosu na početak studije, iako je broj krvnih sudova bio veći, jer su oni gracilniji u odnosu na početak ispitivanja (Tabela 6). Što se tiče obima neoangiogeneze, naši rezultati su u skladu sa podacima iz literature (113). Morfometrijska analiza je omogućila dobijanje detaljnijih podataka o karakteristikama krvnih sudova, debljini zida i širini lumena krvnih sudova, o čemu u aktuelnoj literaturi nema previše podataka. Na osnovu ovih rezultata, a imajući u vidu da je morfometrijska analiza ekonomski isplativija od bojenja monoklonskim antitelima, smatramo da je morfometrija pristupačnija metoda za ispitivanje promena na peritoneumu tokom PD (113).

5.2 KLINIČKA STUDIJA

5.2.1 Bolesnici

Istraživanje je obuhvatilo 83 bolesnika sa terminalnom bubrežnom slabošću koji kao metodu zamene funkcije bubrega koriste peritoneumsku dijalizu.

Ispitivani bolesnici svrstani su u dve grupe. Prvu, incidentnu grupu činilo je 20 bolesnika koji su praćeni tokom prvih 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama. Ispitivanja su obavljena na početku i posle 6 meseci lečenja. Drugu, prevalentnu grupu činila su 63 bolesnika. Planirana ispitivanja su urađena kod ispitanika ove grupe u okviru studije preseka.

U našem ispitivanju, bolesnici incidentne i prevalentne grupe nisu se značajno razlikovali po polu, starosti, osnovnom obolenju, antropometrijskim karakteristikama i kvalitetu dijalize (Tabele 7, 8, 9, 11, 12). Zahvaljujući tome, bila su moguća poređenja između grupa, a rezultati dobijeni kod bolesnika incidentne grupe mogu se primeniti

na ostale naše bolesnike na PD. Najzastupljeniji modalitet dijalize u obe grupe bila je CAPD. U incidentnoj grupi na početku lečenja peritoneumskim dijalizama, CCPD je značajno češće primenjena u odnosu na prevalentnu grupu (Tabela 10, Grafikon 6).

5.2.2 Kvalitet peritoneumske dijalize

Kvalitetna dijaliza je dijaliza koja omogućava najbolji ishod bolesnika, a to znači najbolje preživljavanje i kvalitet života i najmanje komorbiditeta. Optimalna doza dijalize je ona doza iznad koje dalje povećavanje količine dijalize (kad je PD u pitanju to znači broja izmena i volumena dijalizata), ne daje klinički značajno poboljšanje koje bi pravdalo opterećenje bolesnika i finansijske troškove (149, 150, 151). Kvalitet peritoneumske dijalize je bio u centru interesovanja istraživača poslednjih godina.

Kvalitet peritoneumske dijalize može da se modulira količinom primenjenog dijalizata i režimom izmena (150). Bolesnici prevalentne grupe koristili su najmanje po 6 l dijalizata dnevno, a bolesnici incidentne grupe najmanje po 8 l dijalizata dnevno i izlivali su u proseku veće količine dijalizata od ulivenih (Tabela 12, Tabela 38).

Kvalitet dijalize može se proceniti na osnovu klirensa uree i kreatinina. Kod bolesnika na PD značajne su dve komponente klirensa: peritoneumska i rezidualna bubrežna. Peritoneumska komponenta se određuje prema koncentraciji uree i kreatinina u dijalizatu izlivenom tokom 24 sata. Rezidualna bubrežna funkcija se izračunava prema koncentraciji uree i kreatinina u rezidualnoj diurezi. Ukupni klirensi uree i kreatinina su zbir peritoneumskog i rezidualnog bubrežnog klirensa uree i kreatinina (150, 151).

Prema preporukama ispitivanje kvaliteta dijalize podrazumeva da se Kt/V uradi unutar mesec dana od početka hroničnog programa PD, kontrole na 4 meseca i da minimalni ukupni Kt/V bude 1,7 nedeljno. Kontrolu RRF treba raditi svaka 2 meseca ukoliko je rezidualna diureza veća od 100 ml/dan i ukoliko se smatra da RRF značajno doprinosi kvalitetu dijalize (152, 153).

U našoj studiji kvalitet dijalize kod svih ispitivanih bolesnika kontrolisan je unutar mesec dana od početka lečenja peritoneumskom dijalizom i zatim svaka 3 meseca.

Prva ispitivanja su ukazala da su veći ukupni klirensi malih molekula značajni za preživljavanje bolesnika kod kojih se primenjuje PD kao metoda zamene funkcije bubrega (152). Na osnovu rezultata ispitivanja obavljenog u Kanadi i Sjedinjenim Američkim Državama (*Canada-USA*, CANUSA) početkom devedesetih godina

prošlog veka, savetovane su ciljne vrednosti Kt/V 2 i klirensa kreatinina (*clearance creatinine*, ClCr) 60 l/nedeljno. Još veće vrednosti su preporučene bolesnicima na kontinuiranoj cikličnoj i na automatskoj PD bez dnevne izmene (153). U Hong Kongu su randomizovanim ispitivanjem bolesnika sa malom RRF, koji su lečeni CAPD-om i koji su podeljeni u 3 grupe prema vrednostima Kt/V, isključene razlike preživljavanja vezane za peritoneumske klirens (154). Studija u kojoj je ispitano 912 bubrežnih bolesnika iz američkog registra (*United States Renal Disease Study*, USRDS) dokazala je da je za dvanaest meseci preživljavanja značajan bubrežni, a ne peritoneumski klirens uree (155).

Pošto su mnogobrojne multicentrične studije dokazale značaj očuvanja RRF, dobre kontrole volumena telesne vode i arterijskog pritiska, korekcije metaboličke acidoze i dobrog stanja uhranjenosti, pre nego obima klirensa malih molekula za ishod bolesnika (2, 154), ciljne vrednosti Kt/V su smanjene na 1,7 i ClCr na 45 l/nedeljno.

U našoj grupi prevalentnih bolesnika ukupni nedeljni Kt/V je bio od 1,4 do 4,14 (Tabela 20), prosečno $2,17 \pm 0,50$ i samo 10 (15,9%) bolesnika je imalo Kt/V manji od 1,7 (Grafikon 7). Većina bolesnika, 53 (84,1%), su obavljali kvalitetnu dijalizu zato što su imali Kt/V iznad minimalnih preporučenih vrednosti od 1,7. U ovoj grupi, 39 (61,9%) bolesnika su imali vrednosti Kt/V iznad 2, što prevazilazi i strožije preporuke iz 90-tih godina (Grafikon 7).

U incidentnoj grupi bolesnika ukupni nedeljni Kt/V bio je 1,44 do 2,97, u proseku $2,2 \pm 0,4$ (Tabela 22) na početku i blago niži, $2,15 \pm 0,45$ posle 6 meseci lečenja (Tabela 38).

Nije bilo značajne razlike vrednosti Kt/V kod bolesnika prevalentne i incidentne grupe na početku lečenja PD (Tabela 12).

Ukupni ClCr korelira sa RRF i nije značajan kod anuričnih bolesnika. Bubrežni i peritoneumski ClCr ne utiču na ishod bolesnika, a obim bubrežne i peritoneumske ekskrecije kreatinina koreliraju sa mišićnom masom bolesnika (156, 157).

U našem istraživanju ukupni nedeljni ClCr nije se značajno razlikovao u prevalentnoj i incidentnoj grupi bolesnika na početku lečenja PD (Tabela 12). U prevalentnoj grupi, ukupni nedeljni ClCr je bio od 39,97 do 134,75 l/nedeljno/m², u proseku $69,76 \pm 20,62$ l/nedeljno/m² (Tabela 12). Samo 4 (6,3%) bolesnika su imala ClCr manji od 45 l/nedeljno/m², a statistički značajno više bolesnika, 59 (93,7) imalo je ClCr preko 45 l/nedeljno/m² (Grafikon 8).

U grupi incidentnih bolesnika, ukupni nedeljni ClCr je bio od 50,30 do 110,97 l/nedeljno/m², u proseku $70,49 \pm 13,58$ l/nedeljno/m² na početku lečenja (Tabela 12, Tabela 38) i blago manji $69,37 \pm 13,90$ l/nedeljno/m² posle 6 meseci lečenja (Tabela 38).

Bolesnici prevalentne i incidentne grupe (i na početku i posle 6 meseci lečenja PD) imali su u proseku ClCr iznad preporučenih vrednosti od 45 l/nedeljno/m².

Kvalitet dijalize zavisi od RRF. Kasnija analiza rezultata CANUSA studije je dokazala da su RRF i volumen rezidualne diureze jači prediktori boljeg preživljavanja, nego peritoneumski i ukupni klirensi (149, 153). Ova zapažanja su potvrdili rezultati randomizovane studije u Meksiku (*Adequacy of PD in Mexico Study*, ADEMEX), koja je upoređivala ishod bolesnika na hroničnom lečenju PD sa Kt/V oko 1,63 i Kt/V oko 2,13 (2). Bolesnici na različitoj dozi PD su isto preživljavali, i uticaj na ishod imao je obim RRF, a ne peritoneumski klirensi malih rastvorenih materija.

U prevalentnoj grupi naših bolesnika, bilo je samo 5 (7,9%) anuričnih bolesnika, što je statistički značajno manje od 58 (92,1%) bolesnika koji su imali RD (Grafikon 9) do 1700 ml/dan. Rezidualna diureza je bila u proseku 718,1±469,39 ml/dan i rezidualni klirens kreatinina do 7,57 ml/min, u proseku 3,04±2,11 ml/min (Tabela 12).

Svi bolesnici incidentne grupe imali su RRF tokom prvih 6 meseci lečenja. Na početku lečenja PD, RD je bila od 250 do 1500 ml/dan, u proseku 867,5±426,82 ml/dan, a rezidualni klirens kreatinina 0,97 do 6,7 ml/min, u proseku 3,31±1,74 ml/min (Tabela 12). Posle 6 meseci lečenja PD, u incidentnoj grupi bolesnika RD je blago manja 822,5±432,7 ml/dan i rezidualni klirens kreatinina je veći 5,67±3,51 ml/min (Tabela 38). Razlike između RRF i RD tokom prvih 6 meseci lečenja nisu bile statistički značajne, a prosečne vrednosti su imale veliki koeficijent varijacije (Tabela 38).

Prevalentna grupa i incidentna grupa bolesnika na početku lečenja PD nisu se razlikovale prema RRF i RD (Tabela 12).

Randomizirane studije su isključile uticaj obimnijih klirensa malih molekula na stanje uhranjenosti i učestalost hospitalizacija (2, 154).

U prevalentnoj grupi bolesnika dokazane su visoko značajne direktne korelacije ukupnog nedeljnog i rezidualnog nedeljnog Kt/V (Tabela 26) i ukupnog nedeljnog i rezidualnog nedeljnog ClCr (Tabela 28). U incidentnoj grupi bolesnika dokazane su značajne korelacije između ukupnih i rezidualnih klirensa uree i kreatinina, kako na početku (Tabele 41a i 42a), tako i posle 6 meseci lečenja PD (Tabele 41b i 42b). Ove korelacije potvrđuju značaj RRF za kvalitet peritoneumske dijalize.

Bolesnici na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama imaju često povišene reaktante akutne faze, kao što su CRP i feritin, u okviru stanja hroničnog zapaljenja niskog intenziteta (2, 3). U našem ispitivanju, bolesnici prevalentne grupe imali su statistički značajno veće koncentracije CRP-a i feritina u serumu od bolesnika incidentne grupe na početku lečenja PD, što ukazuje na prisustvo inflamacije kod bolesnika na hroničnom programu dijalize (Tabela 13). Stanje hronične inflamacije

niskog intenziteta na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama posledica je: tradicionalnih faktora, uremije i faktora vezanih za proces hronične dijalize, kao što su prisustvo peritoneumskog katetera u trbušnoj duplji, bioinkompatibilnost dijaliznih rastvora, ponovljeni peritonitisi (3, 19, 20). Posledice stanja hronične inflamacije niskog stepena su: kardiovaskularne komplikacije, malokrvnost, rezistenca na stimulatore eritropoeze, pothranjenost, razvoj ateroskleroze (2, 3).

Nisu nađene značajne razlike biohemijskih parametara i kvaliteta dijalize kod bolesnika incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 37, Tabela 38).

5.2.3 Faktor rasta VEGF

Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), ili vazopermeabilni faktor, je glikoprotein sa velikim afinitetom za endotelne ćelije i moćan faktor angiogeneze (81). Različiti tipovi ćelija i tkiva luče VEGF, pod uticajem ishemije, hiperglikemije i hipoglikemije, drugih citokina – kao što je interleukin 6, hormona, inaktivacije onkogeni vHL i p53, i faktora rasta – kao što je TGF- β 1. Ovaj faktor rasta je otkriven na endotelnim ćelijama peritoneumskih kapilara u humanoju populaciji (158, 159, 160). Prisustvo VEGF-a se povećava u trbušnoj maramici i VEGF se nalazi u izlivenom dijalizatu bolesnika na hroničnom lečenju PD. Kulture mezotelnih i endotelnih ćelija izolovanih iz trbušne maramice luče VEGF u *in vitro* uslovima (77, 161).

Dokazano je da VEGF ima ključnu ulogu u neoangiogenezi u dijabetesnoj proliferativnoj retinopatiji i, po analogiji, u razvoju mikrovaskularne hiperpermeabilnosti i neoangiogeneze trbušne maramice na hroničnom programu PD (161). Neoangiogeneza povećava vaskularnu površinu trbušne maramice i ubrzava transport rastvorenih materija (162, 163).

Koncentracija VEGF-a u serumu varira u vrlo širokom opsegu, i u različitim studijama navode se koncentracije od 66 do 1180 ng/l (164), od 20,1 do 1492 pg/ml (165), od 17,4 do 347,5 pg/ml (166).

U prevalentnoj grupi naših bolesnika, koncentracija VEGF-a u serumu je bila od 15,6 do 958,92 pg/ml, srednja vrednost 231,84 \pm 173,91 pg/ml (Tabela 14). U incidentnoj grupi bolesnika, koncentracija VEGF-a u serumu na početku lečenja bila je 149,33 \pm 116,71 pg/ml i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama porasla je značajno do 239,36 \pm 102,23 pg/ml (Tabela 36). Koncentracija VEGF-a u serumu u prevalentnoj grupi bila je statistički značajno veća nego u incidentnoj grupi bolesnika

na početku hroničnog programa PD (Tabela 14). Koncentracija VEGF-a u serumu kod naših bolesnika je u skladu sa nalazima drugih ispitivača (164, 165, 166).

Na koncentraciju VEGF-a u serumu naših bolesnika prevalentne grupe nisu uticali pol i starost bolesnika, modalitet dijalize, ni komorbiditeti, kao što su prisustvo šećerne bolesti i peritonitis (Tabela 24). Multifaktorska analiza je dokazala prediktivni značaj šećerne bolesti za veće koncentracije VEGF-a u serumu (Tabela 51). U daljoj obradi podataka višestrukom regresionom analizom, prisustvo šećerne bolesti nije imalo statistički značajan uticaj na koncentraciju VEGF-a u serumu bolesnika prevalentne grupe (Tabela 53). Individualni faktori utiču na koncentraciju VEGF-a u serumu i novija studija koja je pratila 135 bolesnika na hroničnom programu PD pokazala je značaj genetskog poliformizma za koncentraciju VEGF-a u serumu tokom godinu dana lečenja peritoneumskim dijalizama (166).

Koncentracija VEGF-a u serumu bolesnika prevalentne grupe i incidentne grupe na početku i posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama direktno značajno korelira sa koncentracijom fibrinogena, te se može zaključiti da stanje inflamacije doprinosi većim koncentracijama VEGF-a (Tabele 34, 40a, 40b). Koncentracija VEGF-a u serumu direktno korelira sa glikemijom posle 6 meseci lečenja (Tabela 39b), i može se zaključiti da se veće koncentracije VEGF-a nalaze kod bolesnika sa lošijim metaboličkim karakteristikama. To je u skladu sa navodima brojnih istraživača po kojima je VEGF medijator angiogeneze u različitim komplikacijama šećerne bolesti, kao što je dijabetesna retinopatija (158).

U grupi prevalentnih bolesnika koncentracije VEGF-a u serumu nisu korelirale sa ukupnim, nedeljnim i rezidualnim bubrežnim klirensima uree (Tabela 26) i kreatinina (Tabela 28), kao ni sa rezidualnom funkcijom bubrega (Tabela 29). U našem ispitivanju, u prevalentnoj grupi bolesnika veće koncentracije VEGF-a u serumu su imali bolesnici sa manjom rezidualnom diurezom i manjom rezidualnom funkcijom bubrega, ali bez statističke značajnosti (Tabela 29).

U grupi incidentnih bolesnika koncentracije VEGF-a u serumu nisu korelirale sa ukupnim, nedeljnim i rezidualnim bubrežnim klirensima uree (Tabele 41a i 41b) i kreatinina (Tabele 42a i 42b) na početku, ni posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama. Koncentracije VEGF-a u serumu su značajno manje kod bolesnika incidentne grupe sa manjom rezidualnom funkcijom bubrega i manjom rezidualnom diurezom posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 43).

Istraživači su pokazali značajnu razliku koncentracije VEGF-a u serumu pri različitim vrednostima rezidualne renalne funkcije (RRF): srednja koncentracija VEGF-a u serumu bolesnika sa RRF < 2 ml/min bila je 41,15 pg/ml (21,1-82,7 pg/ml),

a bolesnika sa RRF > 2 ml/min – 27,15 pg/ml (18,9-36,6 pg/ml). Koncentracija VEGF-a u serumu ispitivanih bolesnika direktno korelira sa stanjem hronične inflamacije, koje su definisale koncentracije u plazmi IL-1, C-reaktivnog proteina (CRP) i fibrinogena (167). I drugi istraživači su našli negativnu korelaciju između RRF-a i koncentracije pokazatelja inflamacije u serumu, kao što su hijaluron (168) i faktor nekroze tumora α (165). Početne vrednosti CRP-a prediktori su propadanja RRF-a tokom jednogodišnjeg praćenja (169). Zaključeno je da očuvana RRF doprinosi boljem klirensu faktora rasta i inflamatornih citokina. Sa druge strane, visoke koncentracije faktora rasta i citokina u serumu bi mogle da utiču na smanjenje RRF-a (171).

U grupi incidentnih bolesnika na početku lečenja, koncentracija VEGF-a u serumu je značajno veća kod brzih transportera kreatinina. U grupi prevalentnih bolesnika, multifaktorska analiza je dokazala da stanje brzog i srednje-brzog transporta glukoze i kreatinina statistički značajno utiče na povećanje koncentracije VEGF-a (Tabela 51). U daljem ispitivanju višestrukom regresionom analizom transportni status trbušne maramice izgubio je statističku značajnost uticaja na koncentraciju VEGF-a u serumu (Tabela 53). Ovi naši nalazi delimično su u skladu sa podacima iz literature. Ispitivanje 40 bolesnika bez znakova sistemskog inflamatornog obolenja, koji su lečeni CAPD-om tokom 19 ± 15 (3 do 56) meseci, pokazalo je veće koncentracije VEGF-a u plazmi (342 vs 163 pg/ml) kod srednje-brzih i brzih transportera u odnosu na grupu srednje-sporih i sporih transportera (165).

Koncentracija VEGF-a u serumu bolesnika prevalentne grupe lečenih različitim modalitetima dijalize (Tabela 24) i rastvorima sa različitom koncentracijom glukoze (Tabela 31) nije se razlikovala značajno, najverovatnije zato što je većina naših bolesnika koristila rastvore sa najnižom koncentracijom glukoze. Naši nalazi nisu u skladu sa podacima iz literature koji ukazuju na pozitivnu korelaciju između koncentracije VEGF-a i dnevne količine primenjenog dijalizata (167). Na osnovu nalaza ovih autora bolesnici koji su tretirani rastvorima sa najnižom koncentracijom glukoze imali su statistički značajno manje serumske koncentracije VEGF-a u odnosu na bolesnike koji su izloženi rastvorima sa većom koncentracijom glukoze (18,9-47,1 vs 21,1-82,7 pg/ml, $p < 0,01$). Međutim, u navedenom ispitivanju, obim RRF-a je negativno korelirao sa dozom dijalize, što je moglo da utiče negativno na biokompatibilnost zbog potrebe za primenom veće količine dijalizata. Manje koncentracije VEGF-a u serumu bolesnika sa bolje očuvanim RRF-om možda su posledica bolje biokompatibilnosti dijaliznog tretmana (167). S obzirom da se mi u našoj praksi trudimo da primenjujemo dijalizne rastvore sa najnižom koncentracijom glukoze da bismo obezbedili najbolju moguću biokompatibilnost metode lečenja, to može objasniti odsustvo korelacije

između koncentracije VEGF-a u serumu i modaliteta dijalize i opterećenja glukozom iz dijaliznog rastvora.

U našoj studiji, koncentracija VEGF-a u serumu je značajno porasla u incidentnoj grupi posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 36). U prevalentnoj grupi, koncentracija VEGF-a u serumu je značajno veća kod bolesnika koji su lečeni peritoneumskim dijalizama duže od 5 godina, $286,77 \pm 294,67$ pg/ml, u odnosu na grupu koja je lečena kraće od 5 godina, $223,85 \pm 151,52$ pg/ml (Tabela 32). Koncentracija VEGF-a u serumu u prevalentnoj grupi bolesnika, koji su prosečno dijalizirani 28 ± 24 meseci, bila je statistički značajno veća nego u incidentnoj grupi bolesnika na početku hroničnog programa PD (Tabela 14). Svi navedeni nalazi potvrđuju da hronični program peritoneumske dijalize dovodi do povećanja koncentracije VEGF-a u serumu, što je u skladu sa nalazima drugih istraživača da su bolesnici duže lečeni peritoneumskim dijalizama imali granično veće koncentracije VEGF-a u serumu ($6-27$ vs $2-79$ pg/ml, $p < 0,07$) (167).

Kod bolesnika koji se hronično leče peritoneumskim dijalizama faktor rasta VEGF potiče iz sistemske cirkulacije i sintetiše se lokalno u tkivima trbušne maramice i u izlivenom dijalizatu nalazi se u tragu (77, 87). Ne postoje referente vrednosti koncentracija VEGF-a u izlivenom peritoneumskom dijalizatu, koje bi mogle da se koriste u biohemijskim laboratorijama. Ispitivanja su dokazala da je koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu značajno veća od one koja bi se očekivala kada bi se on samo difuzijom prenosio iz cirkulacije u trbušnu duplju. Kao prediktor za procenu D/P količnika koriste se korelacije između odnosa koncentracije u dijalizatu i u plazmi (D/P količnik) serumskih belančevina koje se samo prenose kroz peritoneumsku membranu iz cirkulacije u trbušnu duplju i njihove molekulske težine. Količnik D/P je značajno veći ($p < 0.0005$) od očekivanog za VEGF ukoliko bi on samo prostom difuzijom prelazio iz cirkulacije u trbušnu duplju. Lokalno stvaranje VEGF-a se procenjuje upoređivanjem njegovog D/P odnosa sa D/P odnosom makromolekula za koje je poznata samo prosta difuzija bez lokalne proizvodnje (71, 78). Moguće je da je lokalna proizvodnja VEGF-a čak obimnija od procenjene, zbog postojanja dve vrste endotelnih receptora visokog afiniteta koji vezuju VEGF (81) i zato što neovaskulatura trbušne maramice povlači VEGF iz dijalizata (77, 78).

Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu kod naših bolesnika je: $38,39 \pm 49,38$ pg/ml (15,6 do 223,8 pg/ml) u prevalentnoj grupi; $38,44 \pm 50,47$ pg/ml (15,6 do 189,7 pg/ml) u incidentnoj grupi na početku lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 14); $43 \pm 51,15$ pg/ml u incidentnoj grupi posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 36). Nađene vrednosti su u skladu sa podacima iz literature. Različiti

ispitivači navode različite koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu: od 78,3 do 1492 pg/ml (165), od 4,4 do 225,3 pg/ml (163) i $58,6 \pm 33,7$ pg/ml (172). Literaturne vrednosti VEGF-a u izlivenom dijalizatu kreću se u širokom rasponu, što smo primetili i u našoj ispitivanoj grupi.

U prevalentnoj grupi naših bolesnika, na koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu nisu uticali pol i starost bolesnika, modalitet dijalize i komorbiditeti, kao što su šećerna bolest i peritonitis, terapija ESA, ACE inhibitorima i statinima (Tabela 25). Kao što je već rečeno za koncentraciju VEGF-a u serumu, studija koja je pratila 135 bolesnika na hroničnom programu PD pokazala je značaj genetskog poliformizma za koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu (166). U našem ispitivanju, multifaktorska analiza demografskih karakteristika, komorbiditeta, kvaliteta dijalize i terapije ukazala je na preditivni značaj modaliteta dijalize i pokazala da lečenje kontinuiranom peritoneumskom dijalizom visoko statistički značajno utiče na smanjenje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu u odnosu na lečenje cikličnom ili automatskom peritoneumskom dijalizom sa praznim periodom tokom 24 sata (Tabela 54). Takođe, multifaktorska analiza je dokazala da je terapija ACE inhibitorima i statinima statistički značajno uticala na smanjenje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu (Tabela 54). Dalja obrada podataka višestrukom regresionom analizom potvrdila je prediktivni uticaj terapije ACE inhibitorima na smanjenje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu kod bolesnika prevalentne grupe (Tabela 56). Višestruka regresiona analiza je istakla i prediktivno značajan uticaj jednog demografskog podatka, starosti bolesnika ispod 65 godina, na povećanje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu u odnosu na starost preko 65 godina (Tabela 56).

U našem ispitivanju, koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu statistički značajno korelira sa koncentracijom VEGF-a u serumu i sa koncentracijom TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe (Tabela 26), što dokazuje da su ova dva faktora rasta delovi iste kaskade događaja.

Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu u prevalentnoj grupi (Tabela 35) i u incidentnoj grupi posle 6 meseci lečenja korelira sa holesterolemijom (Tabela 39b) i može se zaključiti da se veće koncentracije VEGF-a nalaze kod bolesnika sa lošijim metaboličkim karakteristikama.

U našem ispitivanju nije nađena korelacija između koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu i ukupnih i peritoneumskih klirensa uree i kreatinina u prevalentnoj grupi (Tabele 26, 27 i 28), ni u incidentnoj grupi na početku i posle 6 meseci lečenja (Tabele 41a, 41b, 42a, 42b). U incidentnoj grupi bolesnika, koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu obrnuto korelira sa rezidualnim Kt/V posle 6 meseci lečenja (Tabela 41b).

Multifaktorska analiza je ukazala na statistički značajno manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe koji su imali Kt/V veći od 1,7 (Tabela 54). Višestruka regresiona analiza podataka nije potvrdila prediktivni značaj kvaliteta dijalize za koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu (Tabela 56).

U našem ispitivanju, u prevalentnoj grupi bolesnika veće koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu su imali bolesnici sa manjom rezidualnom diurezom i manjom rezidualnom funkcijom bubrega, ali bez statističke značajnosti (Tabela 29). U incidentnoj grupi na početku i posle 6 meseci lečenja PD, koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu kod bolesnika sa manjom rezidualnom diurezom i manjom rezidualnom funkcijom bubrega su značajno veće (Tabela 43), što odgovara nalazima drugih istraživača (167).

Brojni istraživači su ispitivali korelacije između prenosa različitih rastvorenih materija preko trbušne maramice tokom peritoneumske dijalize i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu. Nađena je značajna pozitivna korelacija između koncentracije u izlivenom dijalizatu lokalno sintetisanog VEGF-a i obima transperitoneumskog transporta kreatinina i urata i obima absorpcije glukoze, koji karakterišu efektivnu peritoneumsku vaskularnu površinu. Pokazano je da je VEGF medijator angiogeneze u dijabetesnoj retinopatiji (158). Analogno nalazima da visoke koncentracije VEGF-a u okularnoj tečnosti dijabetičara koreliraju sa proliferativnom retinopatijom, korelacija između obima transporta spomenutih rastvorenih materija i koncentracije ukupnog ili lokalno proizvedenog VEGF-a u izlivenom dijalizatu može da ukaže na njegovu etiopatogenetsku ulogu u procesima neoangiogeneze u trbušnoj maramici (158).

Nije nađena korelacija između obima prenosa uree i belančevina plazme i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu. Urea je mali molekul koji brzo postiže ravnotežu između koncentracija u krvi i u dijalizatu i obim njegovog transporta je nedovoljno specifičan za procenu vaskularne površine peritoneuma. Prenos makromolekula zavisi od broja i od veličine pora na peritoneumskoj membrani (160). Poznato je da VEGF povećava permeabilnost vaskularnog korita peritoneumskog zida i mezenterijuma povećanjem dijametra velikih pora, što povećava prenos belančevina. Sa druge strane fibroza intersticijuma smanjuje vaskularnu hiperpermeabilnost (161).

Literaturni podaci pokazuju širok raspon negativne korelacije između obima transkapilarne ultrafiltracije i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu. Transkapilarna ultrafiltracija je proizvod peritoneumskog koeficijenta ultrafiltracije i transperitoneumskog gradijenta pritiska (zavisi od hidrostatskog, koloidno-osmotskog i kristaloidno-osmotskog pritiska). Samo smanjenje kristaloidno-osmotskog pritiska tokom peritoneumske izmene zavisi od vaskularne površine peritoneuma. Individualne

razlike hidrostatskog i koloidno-osmotskog pritiska objašnjavaju širok raspon nađenih korelacija (78, 159).

Nađena je negativna korelacija bez statističke značajnosti između koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu i obima ukupne ultrafiltracije. Ukupna ultrafiltracija je rezultat efektivne limfne absorpcije i transkapilarne ultrafiltracije. Individualne razlike efektivne limfne absorpcije objašnjavaju odsustvo korelacije između koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu i obima ukupne ultrafiltracije (78).

Sa druge strane, dokazana je značajnija korelacija između obima peritoneumskog transporta i koncentracija lokalno proizvedenog VEGF-a, nego ukupnog VEGF-a u izlivenom dijalizatu (134, 161, 163).

U našem ispitivanju, u prevalentnoj grupi bolesnika nije nađena korelacija između koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu i transportnog statusa glukoze i kreatinina (Tabela 29). Multifaktorska analiza je dokazala da je koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu značajno veća kod srednje-brzih i brzih transportera kreatinina u odnosu na spore i srednje-spore transportere u prevalentnoj grupi bolesnika (Tabela 54), što je u skladu sa podacima iz literature (168). Višestruka regresiona analiza je isključila prediktivni značaj transportnog statusa za koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu, a ukazala na značaj životnog doba bolesnika i terapije ACE inhibitorima (Tabela 56). U incidentnoj grupi koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu značajno obrnuto korelira sa transportnim statusom glukoze i kreatinina na početku lečenja (Tabela 43). To može da ukazuje da su veće koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu na početku lečenja indikatori brzog transportnog statusa glukoze, što je nepovoljna odlika trbušne maramice, naročito na početku dijaliznog programa. Ova korelacija se izgubila posle šestomesečnog dijaliznog lečenja (Tabela 43), verovatno zato što koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu i transportni status zavise i od drugih faktora.

Ispitivanje 40 bolesnika bez znakova sistemskog inflamatornog obolenja, koji su lečeni CAPD-om tokom 19 ± 15 meseci (3 do 56) meseci, pokazalo je da su koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu veće kod srednje-brzih i brzih transportera u odnosu na grupu srednje-sporih i sporih transportera (96 vs 69 pg/ml) (165). U ovoj studiji je nađena i značajna korelacija između koncentracije VEGF-a i koncentracije proinflamatornog citokina IL-6 u izlivenom dijalizatu, što ukazuje na patogenetsku spregu između inflamacije, neoangiogeneze i brzog transportnog statusa (159). Ispitivanja su dokazala značaj genetskog poliformizma za koncentracije VEGF-a u dijalizatu i za promene transportnog statusa tokom godinu dana PD (166).

U našem ispitivanju, koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu je blago porasla tokom prvih 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama, što je u skladu sa

podacima iz literature (Tabela 36). U prevalentnoj grupi nije nađena korelacija između dužine dijaliznog staža i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu. Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu je nešto manja kod bolesnika koji su lečeni dijalizama duže od 5 godina u odnosu na bolesnike koji su imali kraći dijalizni staž. Broj bolesnika sa ovako dugim dijaliznim stažom bio je mali (Tabela 32).

Naši nalazi su u skladu sa podacima iz literature koji pokazuju da se koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu blago povećava tokom vremena provedenog na hroničnom programu peritoneumske dijalize i da je obim povećanja koncentracije VEGF-a nezavisan od početne koncentracije VEGF-a i trajanja dijaliznog staža (165). Ispitivanje sprovedeno kod 10 ne-dijabetičnih bolesnika na lečenju hroničnom peritoneumskom dijalizom je pokazalo prosečno povećanje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu sa 11,7 ng/l na 23,45 ng/l tokom 23 meseca. Kod nekih bolesnika koncentracija VEGF-a se brzo povećala tokom manje od 3 godine, a kod drugih se vrlo lako promenila tokom istog perioda praćenja (165).

U našoj studiji nije nađena razlika koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu u odnosu na opterećenje glukozom iz dijaliznog rastvora (Tabela 31), a podaci u literaturi su kontroverzni. Ispitivanja su dokazala da poremećaj ultrafiltracije i češća primena rastvora sa velikom koncentracijom glukoze najverovatnije pospešuju sintezu VEGF-a (165). Pokazano je da su se prosečne koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu smanjile sa 57,35 ng/l na 23,10 ng/l kod 3 bolesnika koji su prevedeni na terapiju dijaliznim rastvorima bez glukoze tokom 7 meseci lečenja (163). Dve prospektivne randomizovane multicentrične *cross-over* studije sprovedene tokom protekle dekade, primenom konvencionalnih dijaliznih rastvora i rastvora sa neutralnim pH i nižim sadržajem GDP naizmenično, tokom 24 nedelje ukupno, dokazale su da vrsta primenjenog dijaliznog rastvora nema uticaja na koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu (171, 173). Druga grupa autora je dokazala značajnu pozitivnu korelaciju između dužine pojedinačne dijalizne izmene i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu, koja je bila veća posle petnaestčasovnih izmena u odnosu na kraće izmene, dok ostali ispitivani faktori (starost, dužina dijaliznog programa, incidenca peritonitisa, ultrafiltracija, opterećenje glukozom) nisu uticali na koncentraciju VEGF-a u izlivenom dijalizatu (172).

Terapija stimulatorima eritropoeze nije značajno uticala na koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika u našem ispitivanju (Tabele 24 i 25, Tabela 44a). Ističemo da su koncentracije VEGF-a u serumu i u izlivenom dijalizatu bolesnika prevalentne grupe i bolesnika incidentne grupe posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama koji su primali stimulatore eritropoeze bile nešto

veće nego kod bolesnika koji nisu dobijali ove preparate. Nalazi su u skladu sa nalazima drugih istraživača koji su dokazali statistički značajno veće koncentracije VEGF-a u serumu bolesnika koji su primali stimulatore eritropoeze u odnosu na koncentracije kod bolesnika koji nisu dobijali ove preparate (375 ± 220 pg/ml vs 251 ± 75 pg/ml). Ista grupa istraživača je isključila prediktivni značaj životne dobi, pola bolesnika, osnovnog bubrežnog obolenja, šećerne bolesti, modaliteta dijalize, dužine dijaliznog staža, učestalosti peritonitisa i opterećenja glukozom za serumske koncentracije VEGF-a, a dokazala korelaciju između serumske koncentracije VEGF-a i brzog transportnog statusa (174). Dokazano je da eritropoetin, pored stimulacije eritropoeze, pospešuje proliferaciju endotelnih ćelija u in vitro uslovima i smatra se da je endotelin-1 mogući medijator dejstva eritropoetina (175). Ispitivanja kulture goveđe aorte su dokazala sinergističko dejstvo eritropoetina i VEGF-a u pospešivanju proliferacije endotelnih ćelija (176). Molekule eritropoetina i VEGF-a su slične: hipoksija indukuje ekspresiju njihovih gena (177) i obe deluju na ciljne ćelije preko tirozin-kinaznih receptora (185). Gen VEGF-a poseduje DNK sekvencu, nazvanu endotelna PAS belančevina-1 (*endothelial PAS protein-1*, EPAS-1) koja je slična genskoj DNK sekvenci hipoksijom-indukovanog faktora-1 (*hypoxia-inducible factor-1*, HIF-1). Medijator HIF-1 aktivira gen transkripcije eritropoetina u hipoksiji (178). Dokazano je da eritropoetin i VEGF sinergistički deluju preko dve vrste membranskih receptora za VEGF: eritropoetin je ko-mitogen VEGF-a, a ne autonomni faktor, u pospešivanju proliferacije endotelnih ćelija. Eritropoetin povećava broj funkcionalno aktivnih prekursora endotelnih ćelija porekla iz kostne srži, koje migriraju u cirkulaciju i do mesta aktivne neoangiogeneze, gde pospešuju vaskularne reparatorne procese tako što indukuju sintezu VEGF-a i angioepoetina-1. Uticaj na proliferaciju endotelnih ćelija i sintezu VEGF-a je nezavisan od primenjene doze eritropoetina (174, 176, 179).

Multifaktorska analiza i višestruka regresiona analiza dokazale su da primena ACE inhibitora značajno smanjuje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika incidentne grupe posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabele 54 i 56). Eksperimentalna ispitivanja su dokazala da ACE inhibitori štite trbušnu maramicu od dejstva hipertone glukoze dijaliznih rastvora (180) blokadom angiotenzina II koji stimuliše sintezu inflamatornih citokina i preko ovih pospešuje angiogenezu i fibrozu (181). U humanoju populaciji, manja kohortna studija koja je pratila bolesnike na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama tokom 2 godine dokazala je smanjenje brzine prenosa malih molekula kod bolesnika koji uzimaju ACE inhibitore i/ili blokatore receptora angiotenzina (182). Prospektivno praćenje 217 bolesnika u Holandiji je takođe dokazalo da terapija ACE inhibitorima i/ili blokatorima

receptora angiotenzina značajno smanjuje brzinu prenosa malih molekula na lečenju PD-ama (183). U manjoj randomiziranoj studiji, klirensi uree i kreatinina bili su statistički značajno veći kod bolesnika koji su uzimali valsartan u odnosu na bolesnike koji su uzimali placebo (184). Smatramo da manja koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu bolesnika koji su tokom prvih 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama uzimali ACE inhibitore potvrđuje zaštitno dejstvo ovih lekova na trbušnu maramicu u našoj studiji.

U našoj studiji, u prevalentnoj grupi bolesnika dokazana je značajna obrnuta korelacija između terapije statinima i koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu (Tabela 30, Grafikon 16) i multifaktorska analize istakla je statistički značajan uticaj terapije statinima na manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu (Tabela 54). Moguće je da statini štite trbušnu maramicu tokom dugotrajnog lečenja peritoneumskim dijalizama i u literaturi nema mnogo podataka o njihovoj ulozi.

5.2.4 Faktor rasta TGF- β 1

Transformišući faktor rasta- β 1 je moćan faktor rasta koji ima važnu ulogu u zarastanju rana i saniranju lezija (69). Kontroverzni su nalazi o ulozi TGF- β 1 u histološkim i patofiziološkim promenama trbušne maramice na hroničnom programu PD. Dokazano je da se koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu povećava kada postoji inflamacija koju stimuliše interleukin-1 β , TNFa ili transfer adenovirusnih gena. Nađeno je da obim angiogeneze trbušne maramice korelira sa koncentracijom TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu i da povećana koncentracija TGF- β 1 u tkivu peritoneuma uzrokuje povećanu ekspresiju VEGF-a, neoangiogenezu i poremećaj ultrafiltracije (71). TGF- β 1 uzrokuje epitelno-mezenhimalnu tranziciju mezotelnih ćelija peritoneuma. Dokazano je da TGF- β 1 ima ulogu u započinjanju i razvoju peritoneumske fibroze, a preko sekundarnih medijatora, i u održavanju procesa fibroze trbušne maramice (72).

Dokazano je da TGF- β 1 ima patogenetsku ulogu u dijabetiformnim promenama trbušne maramice bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama, jer je glavni medijator ekspanzije ekstracelularnog matriksa i deponovanja kolagena tip IV, te je označen kao medijator fibrogeneze u dijabetesnoj nefropatiji (69). Za razliku od VEGF-a, TGF- β 1 se u malom obimu luči kao solubilni molekul i u cirkulaciji se uglavnom nalazi u inaktivnom obliku vezanom za α 2-makroglobulin (185). U tkivima se TGF- β 1 nalazi i u latentnom obliku vezanom za belančevine (186, 187).

Ekperimentalni model peritoneumske fibroze kod pacova, indukovane prenosom aktivnog TGF- β 1 pomoću adenovirusnog vektora, dokazao je patogenetsku ulogu TGF- β 1 u procesima epitelno-mezenhimalne tranzicije i fibrogeneze (188, 189). Ekperimentalni modeli peritoneumske fibroze indukovane injekcijama hlorksidin-glukonata u trbušnu duplju karakterišu se izraženim zadebljanjem submezotelnog tkiva i povećanjem koncentracije TGF- β u izlivenom dijalizatu sa $2,581 \pm 90$ pg/ml na $4,053 \pm 388$ ng/ml (190).

U prevalentnoj grupi naših bolesnika, koncentracija TGF- β 1 u serumu je bila $29,74 \pm 13,71$ ng/ml (9,1 do 63,7 ng/ml). U incidentnoj grupi bolesnika na početku lečenja, koncentracija TGF- β 1 u serumu bila je $26,82 \pm 16,60$ ng/ml (13,46 do 79,96 ng/ml) i blago je porasla do $27,94 \pm 14,70$ ng/ml posle 6 meseci lečenja PD. Drugi istraživači navode nešto manje koncentracije TGF- β 1 u serumu bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama: 1,21 do 8,62 ng/ml (167).

Faktor rasta TGF- β 1 je prisutan u izlivenom dijalizatu bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama u tragu (77, 83, 87). Ne postoje referente vrednosti koncentracija TGF- β 1 u ovoj tečnosti za upotrebu u biohemijским laboratorijama. Kao što je već rečeno za VEGF, smatra se da i TGF- β 1 delom prelazi difuzijom iz sistemske cirkulacije u trbušnu duplju, a delom se sintetiše lokalno u trbušnoj maramici (78).

Koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu kod naših bolesnika je: $1,01 \pm 0,54$ ng/ml (0,65 do 3,27 ng/ml) u prevalentnoj grupi; $0,9 \pm 0,84$ ng/ml (0,65 do 4,36 ng/ml) u incidentnoj grupi na početku lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 14); $1,19 \pm 0,79$ ng/ml u incidentnoj grupi posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 36). Nađene vrednosti su u skladu sa podacima iz literature, gde se navodi da je koncentracija TGF- β 1 koji je lokalno proizveden u tkivima trbušne maramice u izlivenom dijalizatu do 293,8 ng/l (78), ili 57,2 do 192,1 ng/ml (191).

U našem ispitivanju nađene su brojnije korelacije između koncentracija TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu i parametara kvaliteta dijalize u odnosu na korelacije koncentracija VEGF-a i klirensa uree i kreatinina. U prevalentnoj grupi koncentracija TGF- β 1 u serumu obrnuto korelira sa peritoneumskim nedeljnim i sa ukupnim nedeljnim ClCr do 70 l/nedeljno (Tabela 28). Multifaktorska analiza demografskih karakteristika, komorbiditeta, kvaliteta dijalize i primene ESA, ACE inhibitora i statina potvrdila je prediktivni značaj ukupnog nedelnog ClCr manjeg od 70 l/nedeljno za veće koncentracije TGF- β 1 u serumu bolesnika prevalentne grupe (Tabela 45). U incidentnoj grupi bolesnika na početku lečenja, koncentracija TGF- β 1 obrnuto korelira sa ukupnim nedeljnim i sa peritoneumskim nedeljnim ClCr (Tabela 42a). Posle 6 meseci lečenja, koncentracija TGF- β 1 u serumu obrnuto korelira sa

ukupnim, peritoneumskim i rezidualnim ClCr, i koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu obrnuto korelira sa ukupnim nedeljnim ClCr (Tabela 42b). Nalazi pokazuju da se veće koncentracije TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu nalaze kod bolesnika sa manjim klirensima kreatinina.

U našoj studiji nisu nađene korelacije između koncentracija TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu i obima RRF-a, što je u skladu sa podacima iz literature (167).

U prevalentnoj grupi naših bolesnika, koncentracija TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu obrnuto korelira sa PETglukoze, te veće koncentracije TGF- β 1 ukazuju na brži transportni status glukoze (Tabela 29). Nalazi su u skladu sa podacima iz cross-over studije, koja je obuhvatila 32 bolesnika na hroničnom programu PD i dokazala značajno veću koncentraciju TGF- β 1 u plazmi bolesnika sa hiperpermeabilnošću membrane ($7,7 \pm 1,6$ ng/ml kod sporih i srednje-sporih transportera; $9,13 \pm 1,2$ ng/ml kod brzih i srednje brzih transportera) (167).

U našoj studiji nisu nađene korelacije između koncentracije TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu i dužine dijaliznog staža, mada se koncentracije TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu blago povećavaju tokom vremena provedenog na hroničnom programu PD (Tabele 32 i 36), što je u skladu sa podacima iz literature (180). Višestruka regresiona analiza ističe prediktivni značaj dužine dijaliznog staža iznad 5 godina za veće koncentracije TGF- β 1 u serumu prevalentnih bolesnika (Tabela 47).

Modalitet dijalize i opterećenje glukozom nisu uticali na koncentracije TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu (Tabele 22, 23, 31). Kao što je dokazano za VEGF, prospektivne randomizirane *cross-over* i paralelne studije tokom protekle decenije, isključile su razlike koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu bolesnika koji su lečeni konvencionalnim rastvorima i bolesnika koji su lečeni rastvorima sa neutralnim pH i sniženim sadržajem GDP-a (191, 192).

Za razliku od podataka u literaturi (78), u našem ispitivanju nađena je značajna korelacija između koncentracija VEGF-a i TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu kod bolesnika prevalentne grupe, što ukazuje na mogućnost da su ova dva faktora rasta međusobno povezani u istoj kaskadi reakcija (Tabela 26).

Koncentracija TGF- β 1 u serumu obrnuto korelira sa feremijom u prevalentnoj grupi (Tabela 33), a direktno korelira sa glikemijom i holesterolemijom i u prevalentnoj grupi i u incidentnoj grupi (Tabela 35, 39a i 39b), što dokazuje da se veće koncentracije TGF- β 1 nalaze kod bolesnika sa nepovoljnim metaboličkim profilom.

Na koncentracije TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu nisu uticali pol i životna dob bolesnika, opterećenje glukozom, komorbiditeti, kao što su šećerna bolest i peritonitis, terapija ACE inhibitorima i statinima, RD i RRF (Tabele 22, 23, 29, 30 31

i 32). Multifaktorska analiza demografskih karakteristika, komorbiditeta, modaliteta i kvaliteta dijalize i terapije ACE inhibitorima i statinima dokazala je statistički značajno veće koncentracije TGF- β 1 u serumu kod bolesnika sa ukupnim nedeljnim ClCr manjim od 70 l/nedeljno (Tabela 45) i značajno manje koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu bolesnika na lečenju kontinuiranom peritoneumskom dijalizom i kod sporih i umereno sporih transportera glukoze u odnosu na bolesnike na lečenju cikličnom ili automatskom peritoneumskom dijalizom sa praznim periodom tokom 24 sata i u odnosu na brze i umereno brze transportere glukoze (Tabela 48). Višestruka regresiona analiza istakla je prediktivni značaj dijaliznog staža dužeg 5 godina za veću koncentraciju TGF- β 1 u serumu kod bolesnika prevalentne grupe (Tabela 47).

Koncentracija TGF- β 1 u serumu bila je značajno manja kod bolesnika prevalentne grupe koji su primali terapiju ESA u odnosu na bolesnike koji nisu dobijali ove lekove (Tabele 22 i 30, Grafikon 17). Koncentracija TGF- β 1 u serumu bila je značajno manja kod bolesnika incidentne grupe koji su primali terapiju ESA u odnosu na bolesnike koji nisu dobijali ove lekove posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 44a). Multifaktorska analiza i višestruka regresiona analiza demografskih karakteristika bolesnika, komorbiditeta, kvaliteta dijalize i prateće terapije su dokazale značajnost uticaja terapije ESA stimulatorima za manje koncentracije TGF- β 1 u serumu bolesnika prevalentne grupe u odnosu na druge ispitivane parametre (Tabela 45 i Tabela 47). U literaturi nema podataka o uticaju stimulatora eritropoeze na koncentracije TGF- β 1 u humanoj populaciji, ali je u eksperimentalnim uslovima dokazano da intraperitoneumska primena 5000 U/kg eritropoetina 3x nedeljno tokom 3 sedmice smanjuje fibrozu izazvanu hloreksidinom kod pacova (189).

5.2.5 Marker integriteta trbušne maramice Ca125

Poslednjih godina, Ca125 je opšte prihvaćen marker integriteta i/ili obnove mase mezotelnih ćelija (92, 93, 94). Stanje brzog transporta je u korelaciji sa većom koncentracijom Ca125 i VEGF-a u izlivenom dijalizatu: velika masa mezotelnih ćelija uzrokuje veliku proizvodnju VEGF-a i posledičnu vazodilataciju (95, 193). Koncentracija Ca125 u izlivenom dijalizatu se smanjuje tokom hroničnog lečenja peritoneumskim dijalizama (194), a povećava se tokom primene dijaliznih rastvora sa smanjenom koncentracijom GDP-a i sa većim pH u odnosu na konvencionalne rastvore (20, 191, 195).

U našem ispitivanju, koncentracija Ca125 u izlivenom dijalizatu se značajno smanjuje sa $28,83 \pm 25,35$ na $16,56 \pm 14,65$ IU/l posle 6 meseci lečenja peritoneumskim

dijalizama (Tabela 36). I pored ovog nalaza, tokom prvih 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama, nije nađena korelacija između koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu i ispitivanih faktora rasta, ukupnih, rezidualnih i peritoneumskih klirensa uree i kreatinina, rezidualne diureze i rezidualne bubrežne funkcije (Tabele 41a i 41b, 42a i 42b). Ovakvi nalazi mogu se objasniti kratkim trajanjem dijaliza i može se pretpostaviti da se strukturne i funkcionalne promene trbušne maramice ne dešavaju značajno tokom prvih meseci PD i pored promena koncentracija Ca125 u izlivenom dijalizatu. Može se zaključiti da promene koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu nemaju prognostički značaj, bar u ranom periodu lečenja peritoneumskim dijalizama i da trbušna maramice najverovatnije može dugotrajno da se koristi kao efikasna dijalizna membrana.

Nađena je značajna obrnuta korelacija između koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu i PETkreatinina. Manje koncentracije Ca125 u dijalizatu na početku lečenja dijalizama ukazuju na brži transportni status za kreatinin, koji je nepovoljna karakteristika trbušne maramice, te sa ovog aspekta manje koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu imaju loš prognostički značaj (Tabela 43).

5.2.6 Homocistein

Homocistein je ne-esencijalna aminokiselina koja sadrži sumpor, težine 135 kDa, koja nastaje demetilacijom metionina (196). Koncentracija homocisteina u plazmi zavisi od folata, vitamina B12 i B6 i jačine glomerulske filtracije (197). Ona raste sa propadanjem funkcije bubrega, pa oko 90% bolesnika sa bubrežnom slabošću ima povećane koncentracije homocisteina (198). Hiperhomocisteinemija je nezavisni faktor rizika za pojavu aterosklerotskih komplikacija kod bolesnika sa terminalnom slabošću bubrega (198, 199). Koncentracija homocisteina u serumu bolesnika incidentne grupe na početku praćenja je bila $26,81 \pm 12,78 \mu\text{mol/l}$ i blago se smanjila na $25,58 \pm 12,38 \mu\text{mol/l}$ posle 6 meseci lečenja peritoneumskim dijalizama (Tabela 36), što je u skladu sa podacima iz literature, gde se navode koncentracije od $40 \pm 31 \mu\text{mol/l}$ (13-201 $\mu\text{mol/l}$) (197), 22,2 do 61,7 $\mu\text{mol/l}$ (198), 17,8 do 22,2 $\mu\text{mol/l}$ (199). Blago smanjenje homocisteinemije kod naših bolesnika incidentne grupe tokom 6 meseci praćenja može se objasniti klirensom preko trbušne maramice, koji, prema podacima u literaturi, nije dovoljan da značajno smanji koncentraciju homocisteina u serumu bolesnika na peritoneumskoj dijalizi (199). Nalazi drugih istraživača o uticaju dužine dijaliznog programa na homocisteinemiju su različiti: neki isključuju, a neki potvrđuju korelaciju između dužine dijaliznog programa i

homocisteinemije (197). Ispitivanja su dokazala korelaciju između klirensa homocisteina preko trbušne maramice na peritoneumskoj dijalizi i klirensa uree i kreatinina, obima gubitka belančevina, transportnog status (198).

U našem ispitivanju nismo našli korelacije između homocisteinemije i koncentracija faktora rasta VEGF i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu i koncentracije Ca125 u izlivenom dijalizatu (Tabela 36), najverovatnije zato što homocisteinemija zavisi od drugih navedenih faktora.

Nismo našli korelacije između homocisteinemije i klirensa uree (Tabele 41a i 41b) i kreatinina (Tabele 42a i 42b), rezidualne funkcije bubrega i transportnog statusa trbušne maramice (Tabela 43), što je u skladu sa nalazima drugih istraživača (198).

5.2.7 Ishod bolesnika

Incidenca i prevalenca terminalne bubrežne slabosti su u porastu širom sveta. Stope mortaliteta su se smanjile proteklih 20 godina, ali dugoročno preživljavanje je loše i samo 11% bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama živi duže od 10 godina (200). Prema podacima Američkog registra bubrežnih obolenja, incidentni bolesnici na hroničnom lečenju peritoneumskim i hemodijalizama imaju ukupnu korigovanu jednogodišnju stopu preživljavanja 86,8%, a desetogodišnju samo 11,3% (201, 202).

U našoj studiji, ishod je ispitivan u prevalentnoj grupi bolesnika koji su različito vreme proveli na hroničnom programu PD i koji su nastavili lečenje peritoneumskim dijalizama, ili su prevedeni na hronično lečenje hemodijalizama, ili su umrli. U prevalentnoj grupi preživela su 33 (52%) od ukupno 63 bolesnika (Grafikon 45). Prvih 6 meseci lečenja hroničnim programom peritoneumske dijalize preživelo je 92,3% bolesnika, 12 meseci 73% bolesnika, 24 meseca 46% bolesnika, 36 odnosno 48 meseci 20% bolesnika, 60 meseci odnosno 5 godina samo 8% bolesnika (Grafikon 47). U grupi prevalentnih bolesnika prethodna prosečna dužina staža dijalize bila je $28,8 \pm 27,5$ meseci kod 30 umrlih, a $31,09 \pm 20,3$ meseci kod 33 živa bolesnika (Tabela 57). Stope preživljavanja u našoj studiji nisu korigovane u odnosu na životnu dob bolesnika, od kojih je 38,1% bilo starije od 65 godina (Tabela 8) i prisustvo šećerne bolesti, od koje boluje skoro polovina (49,2%) naših bolesnika (Tabela 9) i zato se stiče utisak lošijeg preživljavanja u odnosu na podatke iz literature.

Navedeni podaci iz literature nisu korigovani u odnosu na promenu modaliteta dijalize, čiji je uticaj na ukupan ishod teško proceniti. Proporcionalno veći

broj bolesnika prelazi sa hroničnog programa peritoneumske na hronični program hemodijalize, a u apsolutnim vrednostima veći broj hemodijaliziranih bolesnika prelazi na hronični program peritoneumske dijalize (200, 201).

U našem ispitivanju, u prevalentnoj grupi: 96,7% bolesnika preživljava prvih 6 meseci lečenja hroničnim programom dijalize, 90% (59 bolesnika) 12 meseci, 83,9% (40 bolesnika) 24 meseca, 70,6% (27 bolesnika) 36 meseci, 46,9% (15 bolesnika) 48 meseci i 20,1% (4 bolesnika) 60 meseci (Grafikon 46). Verovatnoća preživljavanja bolesnika posle 12 meseci opada na 79%, posle 24 meseca na 58%, posle 36, odnosno 48 meseci na oko 32%, a posle 60 meseci iznosi oko 15% (Grafikon 46). U grupi prevalentnih bolesnika prosečna dužina staža na dijalizi 26 osoba, koje su ostale na lečenju hroničnim programom PD, bila je $26,31 \pm 27,5$ meseci. Kod 7 bolesnika koji su prevedeni na hronični program HD, prosečna dužina lečenja peritoneumskim dijalizama bila je $48,86 \pm 20,7$ meseci pre zamene metode dijalize (Tabela 59).

Mnogobrojni faktori utiču na smrtnost bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama. Starost bolesnika, prisustvo šećerne bolesti, etiologija terminalne bubrežne slabosti i trajanje hronične bubrežne slabosti su nezavisni prediktori mortaliteta (201). Rizik smrtnosti se povećava za 4% za svaku godinu starosti, dijabetičari imaju 30% veći rizik smrtnosti u odnosu na ne-dijabetičare, a bolesnici prevedeni sa hroničnog programa hemodijalize imaju 28% veći rizik smrtnosti u odnosu na bolesnike koji započinju hronični program peritoneumske dijalize kao prvi modalitet lečenja (201). Kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok mortaliteta (u oko 50% slučajeva), a genetika je nezavisni prediktor kardiovaskularnog mortaliteta (200).

Učestalost kardiovaskularnih komorbiditeta je visoka kod bolesnika na hroničnom programu dijalize, a lečenje ovih komorbiditeta ne smanjuje rizik od smrtnosti u ovoj populaciji, za razliku od opšte populacije. Pažnja je usmerena ka ne-tradicionalnim faktorima rizika, tipičnim za hroničnu bubrežnu slabost, koji pospešuju celokupni i kardiovaskularni morbiditet i mortalitet u hroničnoj bubrežnoj slabosti: anemija, poremećaji metabolizma kalcijuma i fosfata, inflamacija i oksidativni stres, proteinsko-energetska malnutricija (200, 201). O značaju klirensa uree i kreatinina i rezidualne funkcije bubrega na hroničnom programu peritoneumske dijalize je već bilo reči (2, 152, 153, 154, 155).

Mnogobrojni su podaci u literaturi o lošem prognostičkom značaju velikih koncentracija VEGF-a i/ili njegovih receptora u tumorskom tkivu različitih karcinoma i radbomiosarkoma (203, 204, 205). U literaturi nema mnogo podataka o značaju faktora rasta za ishod bolesnika na hroničnom lečenju peritoneumskim dijalizama. Dokazan je značaj genetskog polimorfizma VEGF-a za preživljavanje bolesnika na

hroničnom programu peritoneumske dijalize i bolesnici sa CA/AA genotipom na položaju -2578 imali su nešto lošije jednogodišnje preživljavanje od bolesnika sa CC genotipom (74,9% vs 90,3%, $p=0,036$, OR 3,04). Međutim, i pored većeg mortaliteta bolesnici sa CA/AA genotipom imali su nešto manje koncentracije VEGF-a u serumu ($298,8\pm 209,4$ vs $541,5\pm 322,8$ pg/ml, $p=0,012$) i u izlivenom dijalizatu od bolesnika sa CC genotipom ($4,48\pm 3,28$ vs $1,82\pm 2,77$ pg/ml, $p=0,021$) (166).

U našem ispitivanju koncentracija VEGF-a u serumu kod bolesnika prevalentne grupe je statistički značajno najveća kod umrlih, značajno veća kod umrlih u odnosu na bolesnike prevedene na HD (Tabela 60, $p=0,007$) i značajno veća kod bolesnika na PD u odnosu na bolesnike koji su sa PD prevedeni na HD (Tabela 60, $p<0,016$). Koncentracija VEGF-a u izlivenom dijalizatu je najveća u bolesnika na PD, ali ne statistički značajno u odnosu na umrle i na bolesnike prevedene na HD (Tabela 60).

Koncentracije TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu nisu se značajno razlikovale kod naših bolesnika u odnosu na ishod (Tabela 60).

Senzitivnost i specifičnost koncentracija faktora rasta VEGF-a i TGF- β 1 u serumu i u izlivenom dijalizatu za ishod bolesnika prevalentne grupe prikazana je ROC krivom (Tabela 61, Grafikon 48). Za bolesnike sa smrtnim ishodom dokazana je statistički značajno veća površina pod ROC krivom (area=0,647, $p=0,045$) za koncentraciju VEGF-a u serumu u odnosu na žive bolesnike koji su ostali na hroničnom lečenju PD ili bolesnike koji su prevedeni na lečenje hemodijalizama (30 umrlih bolesnika vs 33 živa na PD/HD) (Tabela 61, Grafikon 48). Koncentracije VEGF-a u serumu između 203,70 pg/ml i 211,60 pg/ml imaju senzitivnost oko 70% i specifičnost od 58% do 65,6% za smrtni ishod bolesnika: bolesnici prevalentne grupe na hroničnom lečenju PD, sa navedenim koncentracijama VEGF-a u serumu, imali su najlošiji ishod (Tabela 61, Grafikon 48).

Koncentracije TGF- β 1 u serumu i u dijalizatu i VEGF-a u izlivenom dijalizatu nemaju značajnu specifičnost i senzitivnost za ishod bolesnika (Tabela 61, Grafikon 48).

6

ZAKLJUČCI

Na osnovu rezultata dobijenih našim ispitivanjem mogu se izvesti sledeći zaključci:

6.1 EKSPERIMENTALNA STUDIJA

1. Modifikovani eksperimentalni ne-uremijski hronični instilacioni model PD je relativno jeftin, ne zahteva sofisticiranu tehnologiju i životinje ga dobro podnose. Stopa preživljavanja eksperimentalnih životinja tokom petonedeljnog praćenja (85%) je bolja u odnosu na podatke iz literature i komplikacije su neznatne.
2. Model je reproducibilan i može se koristiti za ispitivanje delovanja različitih dijaliznih rastvora na trbušnu maramicu zečeva. Uzorci trbušne maramice su pogodni za histološku analizu.
3. Semikvantitativna analiza mezotela i submezotelnog tkiva trbušne maramice pre i posle izlaganja dijaliznim rastvorima dala je podatke u skladu sa nalazima u literaturi.
4. Morfometrijska analiza je pokazala da su unutrašnja i spoljašnja površina transverzalno presečenih krvnih sudova i njihov unutrašnji i spoljašnji dijametar značajno veći pre izlaganja dijaliznim rastvorima ($p < 0,05$). Gustina krvnih sudova je značajno veća (24,27 vs 9,05 krvnih sudova/100000 μm^2 , $p < 0,05$), a procenat površine tkiva prekriven krvnim sudovima je značajno manji (2,70 vs 5,23%, $p < 0,05$) posle izlaganja dijaliznim rastvorima u odnosu na početak studije.

Morfometrijska analiza je pristupačnija, jednostavnija i ekonomski isplativija metoda od bojenja monoklonskim antitelima i/ili tehnika intravitalne mikroskopije.

Modifikovani eksperimentalni model peritoneumske dijalize, korišćen u našoj studiji, omogućava ispitivanje morfofunkcionalnih promena trbušne maramice izložene delovanju dijaliznih rastvora.

6.2 KLINIČKA STUDIJA

1. Ispitivani bolesnici obavljaju kvalitetnu dijalizu, (KtV) u skladu sa međunarodnim preporukama.
2. Koncentracije TGF- β 1 u serumu su: $29,74 \pm 13,71$ ng/ml u prevalentnoj grupi, a $26,82 \pm 16,60$ ng/ml na početku i $27,94 \pm 14,7$ ng/ml posle 6 meseci lečenja PD-om, nešto veće u odnosu na podatke u literaturi. Koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu su: $1,01 \pm 0,54$ ng/ml u prevalentnoj grupi, $0,90 \pm 0,84$ ng/ml na početku i $1,19 \pm 0,73$ ng/ml posle 6 meseci lečenja, u skladu sa podacima u literaturi.

U incidentnoj grupi bolesnika postoji obrnuta statistički značajna korelacija koncentracije TGF- β 1 u serumu sa ukupnim nedeljnim Kt/V ispod 1,7 ($p=0,040$) i ispod 2 ($p=0,01$) i rezidualnim nedeljnim Kt/V ($p=0,049$) na početku lečenja, ukupnim ($p=0,028$) i rezidualnim ($p=0,018$) ClCr posle 6 meseci lečenja, kao i koncentracije TGF- β 1 u izlivenom dijalizatu sa ukupnim nedeljnim ClCr posle 6 meseci lečenja PD-om ($p=0,022$).

U incidentnoj grupi bolesnika koncentracija TGF- β 1 u serumu obrnuto visoko statistički značajno korelira sa ukupnim ($p=0,007$), peritoneumskim ($p=0,001$) i nedeljnim ClCr na početku lečenja, i peritoneumskim ($p=0,004$) ClCr posle 6 meseci lečenja.

Primena stimulatora eritropoeze statistički značajno smanjuje koncentraciju TGF- β 1 u serumu bolesnika prevalentne ($p=0,015$) i visoko statistički značajno kod bolesnika incidentne ($p<0,001$) grupe posle 6 meseci lečenja.

U prevalentnoj grupi bolesnika multifaktorska analiza dokazala je statistički značajno manje koncentracije TGF- β 1 u serumu bolesnika sa većim ukupnim nedeljnim ClCr ($p=0,015$) i u izlivenom dijalizatu bolesnika na kontinuiranim modalitetima dijalize ($p=0,030$) i sa sporijim transportnim statusom glukoze ($p=0,049$), a visoko statistički značajno manje u serumu bolesnika na terapiji stimulatorima eritropoeze ($p=0,007$).

Višestruka regresiona analiza je dokazala da je terapija ESA visoko statistički značajan ($p=0,002$), a staž dijalize ispod 5 godina statistički značajan ($p=0,048$) prediktor manjih koncentracija TGF- β 1 u serumu.

Koncentracije VEGF-a u serumu su: $231,84 \pm 173,91$ pg/ml u prevalentnoj grupi, $149,33 \pm 116,71$ pg/ml na početku lečenja PD-om i značajno su porasle tokom 6 meseci lečenja ($p=0,012$), što je u skladu sa podacima iz literature. Koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu su: $38,39 \pm 49,38$ pg/ml u prevalentnoj grupi, $38,44 \pm 50,47$ pg/ml na početku i $43,55 \pm 51,15$ pg/ml posle 6 meseci lečenja PD-om, u skladu sa podacima iz literature. Postoji statistički visoko značajna pozitivna korelacija između koncentracije VEGF-a u serumu i izlivenom dijalizatu ($p=0,002$).

U incidentnoj grupi bolesnika koncentracije VEGF-a u serumu statistički značajno obrnuto koreliraju sa PETkreatinina na početku lečenja ($p=0,043$) i sa RRF ($p=0,049$) posle 6 meseci lečenja, a visoko statistički značajno obrnuto koreliraju sa RD na početku lečenja ($p=0,001$) i posle 6 meseci lečenja ($p=0,006$).

U incidentnoj grupi bolesnika koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu u statistički značajnoj obrnutoj korelaciji sa rezidualnim nedeljnim Kt/V ($p=0,029$) posle 6 meseci lečenja, PETkreatinina na početku ($p=0,023$) i posle 6 meseci lečenja ($p=0,047$), RRF posle 6 meseci lečenja ($p=0,12^*$), a visoko statistički značajno obrnuto koreliraju sa PETglukoze ($p=0,009$) i RRF ($p=0,001$) na početku lečenja.

U prevalentnoj grupi bolesnika značajno veće koncentracije VEGF-a u serumu imaju dijabetičari ($p=0,041$), brzi i srednje-brzi transporteri glukoze ($p=0,049$) i kreatinina ($p=0,040$).

Multifaktorska i višestruka regresiona analiza ističe da za manje koncentracije VEGF-a u izlivenom dijalizatu statistički značajan prediktor su ukupni nedeljni Kt/V iznad 1,7 ($p=0,048$), spori i srednje-spori PETkreatinina ($p=0,032$), primena ACE inhibitora ($p=0,047$) i statina ($p=0,015$), a visoko statistički značajan prediktor su starost bolesnika iznad 65 god. ($p=0,008$) i kontinuirani modalitet PD ($p=0,004$).

Koncentracije TGF- β 1 i VEGF-a u izlivenom dijalizatu u prevalentnoj grupi bolesnika statistički značajno pozitivno međusobno koreliraju ($p=0,022$).

Veće koncentracije TGF- β 1 i/ili VEGF-a u serumu i/ili u izlivenom dijalizatu se nalaze kod bolesnika sa većom glikemijom, lipidemijom i fibrinogenemijom.

3. Koncentracija Ca125 u izlivenom dijalizatu na početku je $28,83 \pm 25,35$ IU/l, značajno se smanjuje posle 6 meseci lečenja PD-om ($p=0,016$), što je u skladu sa nalazima drugih ispitivača.
4. U grupi prevalentnih bolesnika jednogodišnja stopa preživljavanja je 73%, a petogodišnja 8%. Koncentracija VEGF-a u serumu je statistički značajno najveća kod umrlih ($275,63 \pm 197,79$ vs $192,04 \pm 140,41$ pg/ml, $p=0,045$), a najlošiji ishod imaju bolesnici sa koncentracijama VEGF-a u serumu između $203,70$ pg/ml i $211,60$ pg/ml. Koncentracije TGF- β 1 u serumu i dijalizatu i VEGF-a u dijalizatu ne razlikuju se značajno u odnosu na ishod i nemaju značajnu specifičnost i senzitivnost za ishod.

Naša klinička studija pokazala je da kod kvalitetno dijaliziranih bolesnika na nivoe ispitivanih faktora rasta, medijatora promena trbušne maramice na dugotrajnom lečenju PD-om, utiču brojni činioci. Pokazano je i da ovi faktori mogu biti prediktori neželjenih događaja i da se na njihov nivo može uticati primenom određenih lekova. Prema tome određivanje njihovih koncentracija tek će imati značaj u praktičnom radu.

7

L I T E R A T U R A

1. Jain AK, Blake P, Cordy P, Garg AX: Global trends in rates of peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 533-44
2. Paniagua R, Amato D, Vonesh E, Correa-Rotter S, Ramos A, Moran J, et al.: Effects of increased clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: ADEMEX, a prospective, randomized controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1307-20
3. Ho YL, Park HC, Seo BJ, Do JY, Yun SR et al.: Superior patient survival for continuous ambulatory peritoneal dialysis patients treated with a peritoneal dialysis fluid with neutral pH and low glucose degradation product concentration (BALANCE). *Perit Dial Int* 2005; 25: 248-55
4. Lameire N, Van Biesen W: What can we learn from Registry Data on peritoneal dialysis outcome? In: *Peritoneal dialysis – from basic concepts to clinical excellence*. Ronco C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.). *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2009, vol. 163, 227-36
5. Devuyst O, Margetts PJ, Topley N: The pathophysiology of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1077-85
6. Nagy JA: Peritoneal membrane morphology and function. *Kidney Int* 1996; 50: S2-11
7. Trpinac D, Stojimirović B, Obradović M, Milutinović D: Morphological alterations of peritoneum during peritoneal dialysis. In: *Quality of peritoneal dialysis*. Nešić V, Stojimirović B (eds.). University School of Medicine, Belgrade, 1998, 41-66
8. Trpinac D, Stojimirović B, Obradović M, Obradović D, Nešić V: Effect of uremia and peritoneal dialysis on peritoneal mesothelial cells. *Vojnosanit Pregled* 2002; 59: 17-21
9. Yung S, Tak Mao Chan: Mesothelial cells. *Perit Dial Int* 2007; 27 (Suppl. 2): S110-5
10. Simonescu M, Simonescu N: Organisation of cell junctions in the peritoneal mesothelium. *J Cell Biol* 1977; 74: 98-110
11. Flessner MF: The importance of the interstitium in peritoneal dialysis transport. *Perit Dial Int* 1996; 16 (Suppl. 1): S76-9
12. De Vriese AS, White R: The peritoneal microcirculation in peritoneal dialysis. In *Nolph and Gokal's Textbook of peritoneal dialysis*. Ramesh Khanna, Krediet RT (eds.), Springer, 2009: 51-72
13. Gotlaib L: Function and structure of peritoneum as a dialysing membrane. In: *Nolph and Gokal's Textbook of peritoneal dialysis*. Ramesh Khanna, Krediet RT (eds.), Springer, 2009: 73-136
14. Coester AM, Smit W, Strujik DG, Krediet RT: Fluid transport with time on peritoneal dialysis: the contribution of free water transport and solute coupled water transport. In: *Peritoneal dialysis – from basic concepts to clinical excellence*. Ronco C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.), *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2009, vol. 163, 22-6
15. Flessner MF: Peritoneal ultrafiltration: physiology and failure. In: *Peritoneal dialysis – from basic concepts to clinical excellence*. Ronco C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.), *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2009, vol. 163, 7-14
16. De Vriese AS, Mortier S, Lameire NH: What happens to the peritoneal membrane in long term peritoneal dialysis? *Perit Dial Int* 2001; 21 (Suppl. 3): S9-18
17. Lage C, Pischetsrieder M, Aufrecht C, Jorres A, Schilling H, Passlick-Deetjen J: First in vitro and in vivo experiences with stay-safe balance, a pH neutral solution in a dual-chambered bag. *Perit Dial Int* 2000; 20 (Suppl. 5): S28-32
18. Mortier S, Faict D, Lameire NH, De Vriese AS: Benefits of switching from a conventional to a low-GDP bicarbonate/lactate-buffered dialysis solution in a rat model. *Kidney Int* 2005; 67: 1559-65

19. Fusshoeller A, Plail M, Grabensee B, Plum J: Biocompatibility pattern of a bicarbonate/lactate-buffered peritoneal dialysis fluid in APD: a prospective, randomized study. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2101-6
20. Williams JD, Topley N, Craig KJ, Mackenzie RK, Pischetsrieder M, Lage C, Passlick-Deetjen J and the Euro Balance Trial Group: The Euro-Balance Trial: the effect of a new biocompatible peritoneal dialysis fluid (balance) on the peritoneal membrane. *Kidney Int* 2004; 66: 408-18
21. Mortier S, Faict D, Schalkwijk CG, Lamiere NH, De Vriese AS: Long-term exposure to new peritoneal dialysis solutions: effects on the peritoneal membrane. *Kidney Int* 2004; 66: 1257-65
22. Zaier M, De Vriese AS, Hekking LHP, ter Wee PM, Schalkwijk CG, Driesprong BAJ, Schadee-Eestermams IL, Beelen RHJ, Maliere N, van der Born J: Immunopathological changes in a uraemic rat model for peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1350-61
23. Slingeneyer A, Canaud B, Mion C: Permanent loss of ultrafiltration capacity of the peritoneum in long-term peritoneal dialysis: an epidemiological study. *Nephron* 1983; 33: 133-8
24. Heimburger O, Waniewski J, Werynki A, Tranaeus A, Lindholm B: Peritoneal transport in CAPD patients with permanent loss of ultrafiltration capacity. *Kidney Int* 1990; 38: 495-506
25. Twardowsky ZJ: Peritoneal equilibration test. *Perit Dial Bull* 1987; 3: 138-47
26. Twardowsky ZJ: Clinical value of standardized equilibration test in CAPD patients. *Blood Purif* 1989; 7: 95-108
27. Twardowsky ZJ: The fast peritoneal equilibration test. *Semin Dial* 1990; 3: 141-2
28. Twardowsky ZJ, Prowant B, Moore H, Lou L, White E, Farris K: Short peritoneal equilibration test: impact of preceding dwell time. *Adv Perit Dial* 2003; 19: 59-61
29. Ho-dac-Pannekeet MM, Atasever B, Struijk DG, Krediet RT: Analysis of ultrafiltration failure in peritoneal dialysis patients by means of standard peritoneal permeability analysis. *Perit Dial Int* 1997; 17: 144-50
30. Smit W, Struijk DG, Krediet RT: The prevalence and causes of ultrafiltration failure in long-term CAPD (Abstract). *Perit Dial Int* 1999; 19 (Suppl. 1): S9
31. Davies SJ, Brown B, Bryan J, Russell GI: Clinical evaluation of the peritoneal equilibration test: a population based study. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 64-70
32. Rippe B: How to measure ultrafiltration failure: 2,27% or 3,86% glucose? *Perit Dial Int* 1997; 17: 125-8
33. Wang T, Heimburger O, Waniewsky J, Bergstrom J, Lindholm B: Increased peritoneal permeability is associated with decreased fluid and small-solute removal and higher mortality in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1242-9
34. Smit W, Parikova A, Strujik DG, Krediet RT: The differences in causes of early and late ultrafiltration failure in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2005; 2 (Suppl. 3): S41-5
35. Parikova A, Smit W, Zweers MM, Strujik DG, Krediet RT: Free water transport, small pore transport and osmotic pressure gradient. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2350-5
36. Parikova A, Smit W, Zweers MM, Strujik DG, Krediet RT: The contribution of free water transport and small pore transport to the total fluid removal in peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2005; 68: 1849-56
37. Coester AM, Smit W, Strujik DG, de Waart DR, Krediet RT: The cellular contribution to effluent potassium and its relation to free water transport during peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3593-600
38. Davies SJ, Philips L, Russell GI: Peritoneal solute transport predicts survival on CAPD independently of residual renal function. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 962-8
39. Choi HY, Kim DK, Lee TH: The clinical usefulness of peritoneal dialysis fluids with neutral pH and low glucose degradation product concentration: an open randomized prospective trial. *Perit Dial Int* 2008; 28: 174-82

40. Williams JD, Craig KJ, Topley N, Von Ruhland C, Fallon M, Newmann GR, Mackenzie RK, Williams GT: Morphological changes in the peritoneal membrane of patients with renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 470-9
41. Williams JD, Craig KJ, von Ruhland C, Topley N, Williams GT, for the Biopsy Registry Study Group: The natural course of peritoneal membrane biology during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2003; 64 (Suppl. 88): S43-9
42. Yung S, L FK, Chan TM: Peritoneal mesothelial cell culture and biology. *Perit Dial Int* 2006; 26: 162-73
43. Gotlaib L: Mechanisms of cell death during peritoneal dialysis. A role for osmotic and oxidative stress. In: *Peritoneal Dialysis – from basic concepts to clinical excellence*. Ronco C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.), *Contrib Nephrol*, Basel, Karger, 2009, vol. 163, 35-44
44. Yanez-Mo M, Lara-Pezzi E, Selgas R, Ramirez-Huesca M, Dominquez-Jimenez C, Jimenez-Heffernan JA: Peritoneal dialysis and epithelial-to-mesenchymal transition of mesothelial cells. *N Eng J Med* 2003; 348: 403-13
45. McLoughlin RM, Topley N: Switching on EMT in the peritoneal membrane: considering the evidence. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 12-5
46. Bajo MA, Perez-Lozano ML, Albar-Vizcaino P: Low-GDP peritoneal dialysis fluid (Balance) has less impact in vitro and ex vivo on epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) of mesothelial cells than a standard PD fluid. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 282-91
47. Kullari R, Weinberger RA: The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119: 1420-8
48. Kullari R: EMT: When epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. *J Clin Invest* 2009; 119: 1417-9
49. Zeisberg M, Nelson EG: Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest* 2009; 119: 1429-37
50. Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M: Epithelial-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* 2007; 13: 952-61
51. Margetts PJ, Bonniaud P, Liu L, Hoff CM, Holmes CJ, West-Mays JA, Kelly MM: Transient overexpression of TGF-beta1 induces epithelial-mesenchymal transition in rodent peritoneum. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 425-36
52. Ro Y, Hamada C, Inaba M, Kaneko K, Tomino Y: Inhibitory effects of matrix metalloproteinase inhibitor ONO-4817 on morphological alterations in chlorexidine gluconate-induced peritoneal sclerosis rats. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 2838-48
53. Do JY, Kim YL, Park JW, Cho KH, Kim TW, Yoom KW, Kim CD, Park SH, Han JH, Song IH: The effect of low glucose degradation product dialysis solution on epithelial-to-mesenchymal transition in CAPD patients. *Perit Dial Int* 2005; 25(Suppl. 3): S22-5
54. Rippe B: Peritoneal angiogenesis in response to dialysis fluid. In: *Peritoneal dialysis – from basic concepts to clinical excellence*. ed. Ronco C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.), *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2009, vol. 163, 60-6
55. Rippe B, Venturoli D: Simulations of osmotic ultrafiltration failure in CAPD using a serial three-pore membrane/fiber matrix model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: 1035-43
56. Flessner MF, Credit K, Henderson K, Vanpelt HM, Potter r, He Z, Henegar J, Robert B: Peritoneal changes after exposure to sterile solutions by catheter. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2294-302
57. Breborowicz A, Rodela H, Oreopoulos DG: Toxicity of osmotic solutes on human peritoneal mesothelial cells in vitro. *Kidney Int* 1992; 41(5): 1280-5
58. Kang DH, Hong YS, Lim HJ, Choi JH, Han DS, Yoon KI: High glucose solution and spent dialysate stimulate synthesis of transforming growth factor beta1 of human peritoneal mesothelial cells: effect of cytokine costimulation. *Perit Dial Int* 1999; 19(3): 221-30
59. De Vriese AS, Tilton RG, Stephan CC, Lamiere NH: Vascular endothelial growth factor is essential for hyperglycemia-induced structural and functional alterations of the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(8): 1734-41

60. Bertoli SV, Buzzi L, Ciurlino D, Maccario M, Traversi L, Martino S, Procaccio M: Histological and functional characteristics of peritoneal membrane in peritoneal sclerosis of PD patients. *J Artif Organs* 2005; 28(2): 112-6
61. Davies SJ, Philips L, Naish PF, Russell GI: Peritoneal glucose exposure and changes in membrane solute transport with time on peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1046-51
62. Krediet RT, Zweers MM, van Westrhenen R, Zegward A, Stuijk DG: Effects of reducing the lactate and glucose content in PD solutions on the peritoneum: is the future GLAD? *Nephrol Dial Transplant Plus* 2008; (Suppl. 4): iv56-62
63. Park MS, Lee HA, Chu WS, Yang DH, Hwang SD: Peritoneal accumulation of AGE and peritoneal membrane permeability. *Perit Dial Int* 2000; 20: 452-60
64. Zaiere M, Tangelder GJ, ter Wee PM, Hekking LH, van Lambalgen AA, Keuning ED, Schadee-Eestermans IL, Schalkwijk CG, Beelen RH, van den Born J: Beneficial effects of aminoguanidine on peritoneal microcirculation and tissue remodelling in a rat model of PD. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(12): 2782-92
65. Schwenger V, Morath C, Salava A, Amann K, Seregin Y, Deppisch R, Ritz E, Bierhaus A, Nowroth PP, Zeier M: Damage to the peritoneal membrane by glucose degradation products is mediated by a receptor for advanced-glycolysation end-products. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(1): 199-207
66. Wong TY, Phillips AO, Witowsky J, Topley N: Glucose-mediated induction of TGF- β 1 and MPC-1 in mesothelial cells in vitro is osmolality and polyol pathway dependent. *Kidney Int* 2003; 63(4): 1404-16
67. Zaiere M, Hekking LH, Welten AG, Driesprong BA, Schadee-Eestermans IL, Faict D, Leyssens A, Schalkwijk CG, Beelen RH, van der Born J: Contribution of lactate-buffer, glucose and GDPs to peritoneal injury in vivo. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(12): 2629-37
68. Zaiere M, Schwenger V, Deppisch R: Glucose degradation products in PD fluids: do they disappear from the peritoneal cavity and enter the systemic circulation. *Kidney Int* 2003; 63: 298-305
69. Lawrence DA. Transforming growth factor- β : A general review. *Eur Cytokine New.* 1996; 7: 363-74
70. Barvellos-Hoff MH. Latency and activation in the control of TGF-. *J Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 1996; 1: 351-61
71. Randall JF. Bad and good growth factors in the peritoneal cavity. *Nephrology.* 2005; 10: 234-9
72. Al-Jayyousi RH, Medcalf JF, Harris KPG. Role of transforming growth factor beta in peritoneal fibrosis. *Nephrology* 2002; 7: 216-9
73. Gotlaib L, Wajsbrot V, Shostak A: A short review of experimental peritoneal fibrosis: from mice to men. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 97-104
74. Hung Kuan-Zu, Kuan-Du Wu, Tun-Jan Tsai: In vitro study of peritoneal fibrosis. *Perit Dial Int* 2007; 27(Supl. 2): S72-5
75. Honda K, Kamada C, Nayama M, Miyazaki M, Sherif AM, Harada T, Hirano H: Impact of uremia, diabetes and peritoneal dialysis itself on the pathogenesis of peritoneal sclerosis: a quantitative study of peritoneal membrane morphology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 720-8
76. Garosi G: Different aspects of peritoneal damage: fibrosis and sclerosis. In: *Peritoneal dialysis – from basic concepts to clinical excellence.* ed. C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.), *Contrib Nephrol.* Basel, Karger, 2009, vol. 163, 45-53
77. Hunjoo Ha, Mi Kyung Cha, Hoo Nam Choi, Hi Bahi Lee. Effects of peritoneal dialysis solutions on the secretion of growth factors and extracellular matrix proteins by human peritoneal mesothelial cells. *Perit Dial Int* 2002; 22: 171-7
78. Zweers MM, deWaart DR, Smit W, Struijk DG, Krediet RT. Growth factors VEGF and TGF in peritoneal dialysis. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 124-32

79. Margetts PJ, Kolb M, Galt T et al. Gene transfer of transforming growth factor β to the rat peritoneum: Effects on membrane function. *J Am Soc Nephrol*. 2001; 12: 2029-39
80. Margetts PJ, Gyorffy S, Kolb M et al. Antiangiogenic and antifibrotic gene therapy in a chronic infusion model of peritoneal dialysis in rat. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 721-8
81. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13: 9-22
82. Khamaisi M, Schrijvers BF, De Vriese AS, Raz I, Flyvbjerg A. The emerging role of VEGF in diabetic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1427-30
83. De Vriese AS, Tilton RG, Elger M, Stephan CC, Kriz W, Lameire NH: Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 993-1000
84. Cooper ME, Vranes D, Youssef S et al. Increased renal expression of VEGF and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 2229-39
85. Cha Dr, Kim NH, Yoon JW et al. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 77: S104-12
86. Hood JD, Meininger CJ, Ziche M, Granger HJ. VEGF upregulates eNOS message, protein C and NO production in human endothelial cells. *Am J Physiol* 1998; 274: H1054-8
87. Devuyst O. Molecular mechanisms of peritoneal permeability – research in growth factors. *Perit Dial Int*. 2001; 21: S19-23
88. Margetts PJ, Kolb M, Yu L, Hoff CM, Gaudie J. A chronic inflammatory infusion model of peritoneal dialysis in rat. *Perit Dial Int* 2001; 21: S368-72
89. Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H et al. Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest*. 1981; 68: 1331-7
90. O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ et al. The Ca125 gene: an extracellular superstructure dominated by repeat sequences. *Tumor Biol* 2001; 22: 348-66
91. O'Brien TJ, Beard JB, Underwood LJ et al. The Ca125 gene: a newly discovered extension of the glycosylated N-terminal domain doubles the size of this extracellular superstructure. *Tumor Biol* 2002; 23: 145-69
92. Topley N, Michael D, Chalice T. Ca125: holy grail or poisoned chalice. *Nephron*. 2005; 100: c52-4
93. Visser CE, Brouwer-Steenbergen JJE, Betjes MGH et al. Ca125: a bulk marker for mesothelial cell mass in stable peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 64-9
94. Breborowicz A, Breborowicz M, Pyda M, Polubinska A, Oreopoulos D. Limitations of Ca125 as an index of peritoneal mesothelial cell mass – an in vitro study. *Nephrol Clin Pract* 2005; 100: c46-51
95. Ho-dac Pankeet MM, Hiralall JK, Struijk DG et al. Longitudinal follow-up of Ca125 in peritoneal dialysis effluent. *Kidney Int* 1997; 51: 888-93
96. Rippe B, Simonsen O, Heimbürger O et al. Long-term clinical effects of a peritoneal dialysis fluid with less glucose degradation products. *Kidney Int* 2001; 59: 348-57
97. Jones S, Holmes CJ, Krediet RT et al. Bicarbonate/lactate-based peritoneal dialysis solution increases Ca125 and decreases hyalurinic acid level. *Kidney Int* 2001; 59: 1529-38
98. Zweers MM, Margetts PJ: Animal models for peritoneal dialysis research. In: Nolph and Gokal s Textbook of peritoneal dialysis. Third edition. Khanna R, Krediet RT (eds.), Springer. 2009; 180-9
99. Stojimirović B, Trobojević-Stanković J, Nešić D: Animal models in peritoneal dialysis. *Scand J Lab Anim Sci* 2007; 34: 283-9
100. Mortier S, Lameire N, De Vriese AS: Animal models in peritoneal dialysis reasearch: a need for consensus. *Perit Dial Int* 2005; 25: 16-24
101. Topley N: Animal models in peritoneal dialysis: more questions than answers? *Perit Dial Int* 2005; 25 (1): 33-4
102. Lameire N, Van Biesen W, Van Landschoot M, Wang T, Heimbürger O, Bergstrom J, Lindholm B, Hekiing LPH, Havenith CEG, Beelen RHJ: Experimental models in peritoneal dialysis: a european experience. *Kidney Int* 1998; 54: 2194-206

103. Garosi G, Di Paolo N: The rabbit model in evaluating the biocompatibility in peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 664-5
104. Peng YM, Shu ZJ, Xiao L, Sun L, Tang WB, Huang Y, Liu YH, Li J, Ling GH, Xu XQ, Halmurat U, Liu FY: A new non-uremic rat model of long-term peritoneal dialysis. *Physiol Res* 2011; 60: 157-64
105. Žunić-Božinovski S, Laušević Ž, Krstić S, Jovanović N, Stanković-Trbojević J, Stojimirović B: An experimental, non-uremic rabbit model of peritoneal dialysis. *Physiol Research* 2008; 57: 253-60
106. Jovanović N, Žunić-Božinovski S, Trpinac D, Laušević Ž, Krstić S, Oprić D, Stanković-Trbojević J, Stojimirović B: Ultrastructural changes of the peritoneum in a rabbit model of peritoneal dialysis. *Vojnosanit Pregled*, 2012, in press
107. Ni J, Verbalaty JM, Rippe A, Boisdès J, Moulin P, Rippe B, Verkman AS, Devuyst O: Aquaporin-1 plays an essential role in water permeability and ultrafiltration during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2006; 69: 1518-25
108. Rosegreen BI, Rippe A, Rippe C, Venturoli D, Sward K, Rippe B: Transvascular protein transport in mice lacking endothelial caveole. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: 1371-7
109. Mortier S, De Vriese AS, Leysens A, Vanacker NJ, Faict D, Cornelissen M, De Ridder L, Lameire N: Antibiotic administration in an animal model of chronic peritoneal dialysis exposure. *Perit Dial Int* 2013; 23: 331-8
110. De Vriese A, Mortier S, Lameire N: Non anticoagulant effects of heparin: implications for animal models of peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2001; 21(Suppl. 3): S354-6
111. Bazargani F, Albrektsson A, Yahyapour N, Braide M: Low molecular weight heparin improves peritoneal ultrafiltration and blocks complement and coagulation. *Perit Dial Int* 2005; 25: 394-404
112. Stojimirović B, Jovanović N, Laušević Ž, Krstić S, Obradović M, Žunić-Božinovska S: First histological findings in rabbit model of peritoneal dialysis. *Acta Veterinaria*, 2010; 5-6: 625-32
113. Stojimirović B, Jovanović N, Laušević Ž, Krstić S, Trbojević-Stanković J, Trpinac D, Žunić-Božinovski S: Possibilities of histological studies in non-uremic rabbit model of peritoneal dialysis. *JAVA* 2011; 10: 1414-20
114. Duman S, Sen S, Gunal AI, Asci G, Akcicek F, Basci A: How can we standardize peritoneal thickness measurements in experimental studies in rats? *Perit Dial Int* 2001; 21(Suppl. 3): S338-41
115. Di Paolo N, Garosi G, Petrini G, Monaci G: Morphological and morphometric changes in mesothelial cells during peritoneal dialysis in the rabbit. *Nephron* 1996; 74(3): 594-9
116. Zweers MM, Douma CE, de Waart DR, van der Wardt AB, Ho-Doc-Pannekeet MD, Krediet RT, Strujik DG: The standard peritoneal permeability analysis in the rabbit: a longitudinal model for peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1999; 19: 56-64
117. Krediet RT, Zemel D, Imholz AC, Strujik AG: Impact of surface area and permeability on solute clearances. *Perit Dial Int* 1994; 14(Suppl. 3): S70-3
118. Park MS, Heimburger O, Bergstrom J, Waniewsky J, Werynsky A, Lindholm B: Evaluation of an experimental rat model of peritoneal dialysis: fluid and solute transport characteristics. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 404-12
119. Rippe A, Rippe C, Sward K, Rippe B: Disproportionally low clearance of macromolecules from plasma to peritoneal cavity in a mouse model of peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 88-95
120. Ni J, Cnaps Y, Deboix N, Boisdès T, Verbavatz JM, Devuyst O: Functional and molecular characteristics of a peritoneal dialysis model in the C57BC/6J mouse. *Kidney Int* 2005; 67: 2021-31
121. Shin SK, Kamerath CD, Gibson Jf, Leyboldt JK: Effects of anesthesia on fluid and solute transport in a C57BL6 mouse model of peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2874-80

122. Fox SD, Leupoldt JK, Hendersson LK: Visceral peritoneum is not essential for solute transport during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 1991; 40: 612-20
123. Kumano K, Go K, He M, Sahai T: Role of diaphragmatic, visceral and parietal pathways in peritoneal fluid absorption in rat peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1996; 16 (Suppl. 1): S80-3
124. Yaun Y, Rodela H, Hay JB, Oreopoulos D, Johnston MG: Lymph flow and lymphatic drainage of inflammatory cells from the peritoneal cavity in a casein-peritonitis model in sheep. *Lymphology* 1994; 27: 114-28
125. Fischbach M, Michallat AC, Zollener G, Dheu C, Berthelmebs M et al.: Measurement by magnetic resonance imaging of the peritoneal membrane in contact with dialysate in rats. *Adv Perit Dial* 2005; 21: 17-20
126. Flessner MF, Lofthouse J, Zakaria EK: Improving contact area between the peritoneum and intraperitoneal therapeutic solutions. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 807-12
127. Flessner MF, Lofthouse J, Williams A: Increasing peritoneal contact area during dialysis improves mass transfer. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2139-45
128. Rosegreen BT, Rippe B: Blood flow limitations in vivo of small solute transfer during peritoneal dialysis in rats. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1599-604
129. Mortier S, De Vriese AS, Van de Voorde J, Schaub TP, Passlick-Deetjen J, Lameire N: Hemodynamic effects of peritoneal dialysis solutions on rat peritoneal membrane: role of acidity, buffer choice, glucose concentration and glucose degradation products. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 480-9
130. Vrtovsni F, Coester AM, Lopes-Barreto D, de Waart DR, Van der Wal AC, Struijk DG, Krediet RT, Zweers MM: Induction of chronic kidney failure in a long-term peritoneal exposure model in the rat: effects on functional and structural peritoneal alterations. *Perit Dial Int* 2010; 30: 558-69
131. Schilte MN, Celie JWAM, ter Wee PM, Beelen RHJ, van den Born J: Factors contributing to peritoneal dialysis remodeling in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2009; 29: 605-17
132. De Vriese AS, Tilton RG, Mortier S, Lamiere NH: Myofibroblastic transdifferentiation of mesothelial cells is mediated by RAGE and contributes to peritoneal fibrosis in uremia. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2543-5
133. Stonenoiu MS, De Vriese AS, Brouet A, Moulin P, Feron O, Lamiere N, Devuyst O: Experimental diabetes induces functional and structural changes in the peritoneum. *Kidney Int* 2002; 62: 668-78
134. De Vriese AS, Flyvbjerg A, Mortier S, Tilton RG, Lamiere NH: Inhibition of the interaction of AGE-RAGE prevents hyperglycemia induced fibrosis in the peritoneal membrane. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2109-18
135. Zegwaard AH, Strujik DG, de Graaf M, Krediet RT, Zweers MM: The effects of an experimental peritoneal dialysis solution on the peritoneum in a uremic rat model. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 11 (Suppl. 4): 254
136. Di Paolo N, Sacchi G, Buonchristiani U., et al. The morphology of peritoneal membrane during CAPD. *Nephron* 1986;44: 204-11
137. Dobbie JW. Peritoneal ultrastructure and changes with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1993;13(Suppl. 2): 585-7
138. De Vriese A.S, Lameire N.H. Intravital microscopy: an integrated evaluation of peritoneal function and structure. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(3): 657-60
139. Korkolopolou P, Patsouris E, Kavanatzas N., et al. Prognostic implications of microvessel morphometry in diffuse astrocytic neoplasms. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2002; 28(1): 57-66
140. Manoonkitiwongsa P.S, McMillan P.J, Schultz R.L., et al. A simple stereologic method for analysis of cerebral cortical microvessels using image analysis. *Brain Research Protocols* 2001; 8: 45-57
141. Gotch FA, Sargent JA: A mechanistic analysis of the National Cooperative Dialysis Study (NCDS). *Kidney Int* 1985; 28(3): 526-34

142. Lysaght MJ, Farrell PC: Membrane phenomena and mass transfer kinetics in peritoneal dialysis. *Journal of Membrane Science* 1989; 44(1): 5-33
143. Lysaght MJ, Pollock CA, Hallet MD, Ibels LS, Farrell PC: The relevance of urea kinetic modeling to CAPD. *ASAIO* 1989; 35(4): 784-90
144. Watson PE, Watson ID, Batt RD: Total body water volumes for adults males and females estimated from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 27-39
145. Dubois D, Dubois EF: A formula to estimate the approximative surface area if height and weight are known. *Arch Tnetern Med* 1916; 17: 863-71
146. Daurgidas JT: Surface-area-normalized adjustment to Kt/V and weekly standard Kt/V. Appendix A. *Handbook of dialysis*, 4th Edition. Daurgidas JT, Blake PB, Ing TS (eds.), Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2007
147. Mandolfo S, Zucchi A, Cavalieri D Oro L, Corradi B, Imbasciati E: Protein nitrogen appearance in CAPD patients: what is the best formula. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1592-6
148. Tzamaloukas AH, Murata H: Computational formulas for clearance indeces in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 1996; 16: 13-4
149. Blake P: A critique of the Canada/USA (CANUSA) peritoneal dialysis study. *Perit Dial Int* 1996; 16: 24-5
150. Blake P, Burkhart J, Churchill D: Recommended clinical practices for maximizing peritoneal dialysis clearances. *Perit Dial Int* 1996; 16: 44-56
151. NFK KDOI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for 2006 Updates: Hemodialysis Adequacy, Peritoneal Dialysis Adequacy and Vascular Access. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: S1-322
152. Churchill D, Thorpe KE, Nolph KD, Keshaviah PR, Oreopoulos DG, Page D: Increased peritoneal membrane transport is associated with decreased patient and technique survival for continuous peritoneal dialysis patients. The Canada-USA (CANUSA) Peritoneal Dialysis Study Group. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1285-92
153. Bargman JP, Thorpe KE, Churchill DN: Relative contribution of residual renal function and peritoneal clearance to adequacy of dialysis: a reanalysis of the CANUSA Study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2158-62
154. Lo WK, Ho YK, Li CS: Effects of Kt/V on survival and clinical outcome in CAPD patients in a randomized prospective study. *Kidney Int* 2003; 64: 649-56
155. Rocco MV, Frankenfield DL, Prowant B, Frederick P, Flanigan MJ: Risk factors for early mortality in U.S. peritoneal dialysis patients: Impact of residual renal function. *Perit Dial Int* 2002; 23: 371-9
156. Keshaviah PR, Nolph KD, Moore HL: Lean body mass estimation by creatinine kinetics. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: 1475-85
157. Lo WK, Prowant BF, Moore HL: Comparison of different measurements of lean body mass in normal individuals and in chronic peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 74-85
158. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 146: 1029-39
159. Nagy JA, Masse EM, Herzberg KT, Meyers MS, Yeo KT, Sioussat TM: Pathogenesis of ascites tumor growth. Vascular permeability factor, vascular hyperpermeability and ascites accumulation. *Cancer Res* 1995; 55: 360-8
160. Dvorak HF, Sioussat TM, Brown LF, Berse B, Sotrel A, Manseah EJ: Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors: concentration in tumor blood vessels. *J Exp Med* 1991; 174: 1275-8
161. Ho-dac-Pannekeet MM, Schouten N, Langedijk MJ, Hiralal JK, de Waart DR, Struijk DG: Peritoneal transport characteristics with glucose polymer based dialysate. *Kidney Int* 1996; 50: 979-86

162. Tanaka Z, Katoh S, Hori S, Miura M, Zamashita H: Vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *Lancet* 1997; 349: 1520
163. Zweers MM, Struijk DG, Smit W, Krediet RT: Vascular endothelial growth factor in peritoneal dialysis: a longitudinal follow-up. *J Lab Clin Med* 2000; 137: 125-32
164. Van Esch S, Zweers MM, Jansen MAM, de Waart DR, van Manen JG, Krediet RT: Determinants of peritoneal solute transport rates in newly started nondiabetic peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2004; 24: 554-61
165. Filho-Pecoits R, Araujo MRT, Lindholm B, Stenvinkel P, Abensur H, Romao JE, Marcondes M, de Oliveira AHF, Noronha IL: Plasma and dialysate IL-6 and VEGF concentrations are associated with high peritoneal solute transport rate. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1480-6
166. Szeto CC, Chow KM, Poon P, Szeto CYK, Wong TYH, Li PKT: Genetic polymorphism of VEGF: impact on longitudinal change of peritoneal transport and survival of peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 2004; 65: 1947-55
167. Stompor T, Zdzienicka A, Motyka M, Dembinska-Kiec A, Davies SJ, Sulowicy W: Selected growth factors in peritoneal dialysis: their relationship to markers of inflammation, dialysis adequacy, residual renal function and peritoneal membrane transport. *Perit Dial Int* 2002; 22: 670-6
168. Wang T, Heimbürger O, Cheng HH, Bergström J, Lindholm B: Does a high peritoneal transport rate reflect a state of chronic inflammation? *Perit Dial Int* 1999; 19: 17-22
169. Espinoza M, Aguilera A, Auxiliadora Bajo M, Codoceo R, Caravaca E: Tumor necrosis factor alpha as a uremic toxin: correlation with neuropathy, left ventricular hypertrophy, anemia and hypertriglyceridemia in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 1999; 15: 82-6
170. Chung SH, Heimbürger O, Stenvinkel P, Bergström J, Lindholm B: Association between inflammation and changes in residual renal function and peritoneal transport rate during the first year of dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2240-5
171. Williams JD, Topley N, Craig KJ, Williams GT: Peritoneal dialysis: Changes to the structure of the peritoneal membrane and potential for biocompatible solutions. *Kidney Int* 2003; 63(Suppl. 84): S151-61
172. Selgas R, del Peso G, Bajo MA, Molina S, Cirugeda A, Sanchez-Tomero JA, Castro MJ, Castro MA, Vara F: Vascular endothelial growth factor levels in peritoneal dialysis effluent. *J Nephrol* 2001; 14: 270-4
173. Haas S, Schmitt CP, Arbeiter K, Bonzel KE, Fischbach M, John U: Improved acidosis correction and recovery of mesothelial cells with neutral-pH bicarbonate dialysis solution among children undergoing automated peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2632-8
174. Del peso G, Selgas R, Dajo MA, Fernandez de castro M, Aguilera A, Cirugeda A, Jimenez C: Serum level of vascular endothelial growth factor is influenced by erythropoietin treatment in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2000; 16: 85-9
175. Carlini RG, Reyes AA, Rothstein M: Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vivo. *Kidney Int* 1995; 47: 1032-44
176. Alvarez MV, Castilla MA, Gonzalez-Pacheco RF: Role of vascular endothelial growth factor on erythropoietin-related endothelial cell proliferation. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1998-2004
177. Goldberg MA, Schneider TJ: Similarities between the oxygen-sensing mechanisms regulating the expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin. *J Biol Chem* 1994; 269: 4355-9
178. Ren HY, Komatsu N, Shimizu R, Okada K, Miura Y: Erythropoietin induces tyrosine phosphorylation and activation of phospholipase C-gamma 1 in a human erythropoietin-dependent cell line. *J Biol Chem* 1994; 269: 19633-8

179. Wiesner MS, Turley H, Allen WE: Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia: characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1 α . *Blood* 1998; 92: 2260-8
180. Duman S, Wieczorowska-Tobis K, Styszynski A, Kwiatkowska B, Breborowicz A, Oroepoulos DG: Intraperitoneal enalapril ameliorates morphologic changes induced by hypertonic peritoneal dialysis solutions in rat peritoneum. *Adv Perit Dial* 2004; 20: 31-6
181. Marchesi C, Paradis P, Schiffrin EL: Role of renin-angiotensin system in vascular inflammation. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29: 367-84
182. Kolesnyk I, Dekker FW, Noordzij M, le Cessie S, Struijk DG, Krediet RT: Impact of ACE inhibitors and AII receptor blockers on peritoneal membrane transport characteristics in long-term peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2007; 27: 446-53
183. Kolesnyk I, Noordzij M, Dekker FW, Boeschoten EW, Krediet RT: A positive effect of AII inhibitors on peritoneal membrane function in long-term PD patients. *Nephrol Dial transplant* 2009; 24: 272-7
184. Suzuki H, Kanno Y, Sugahara S, Okada H, Nakamoto H: Effects of an AII receptor blocker, valsartan, on residual renal function in patients on CAPD. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 1056-64
185. Connor-McCourt MD, Wakefield LM: Latent transforming growth factor beta in serum. A specific complex with alpha 2-macroglobulin. *J Biol Chem* 1987; 262: 1490-9
186. Huang SS, O Grady P, Huang JS: Human transforming growth factor β - α 2-macroglobulin complex is the latent form of transforming growth factor β . *J Biol Chem* 1988; 263: 1535-41
187. Lin CY, Chen WP, Fu LW, Huan TP: Persistent transforming growth factor β expression may predict peritoneal fibrosis in CAPD patients with frequent peritonitis occurrence. *Adv Perit Dial* 1997; 13: 64-71
188. Margetts P, Bonniaud P, Liu L, Hoff CM, Holmes CJ, West-Mays JA, Kelly MM: Transient overexpression of TGF- β 1 induces epithelial mesenchymal transition in rodent peritoneum. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 425-36
189. Mondello S, Mazzon E, Di Paola R, Crisafulli C, Italiano D, Buemi M, Aloisi C, Cuzzocrea S: Erythropoietin suppresses peritoneal fibrosis in rat experimental model. *European Journal of Pharmacology* 2009; 604: 138-49
190. Hur E, Bozkurt D, Timur O, Bicak S, Sarsik B, Akcicek F, Duman S: The effects of mycophenolate mofetil on encapsulated peritoneal sclerosis model in rats. *Clinical Nephrology* 2012; 77: 1-7
191. Fischbach M, Dheu C, Seuge L, Delobbe JF: Adequacy of peritoneal dialysis: consider the membrane. *Perit Dial Int* 2007; S2: S167-70
192. Krediet RT, Sampimon DE, Vlijm A, Coester AM, Struijk G, Smit W: Biological markers in the peritoneal dialysate effluent: are they useful? In: *Peritoneal dialysis – from basic concepts to clinical excellence*. Ronco C, Crepaldi C, Cruz DN (eds.), Contrib Nephrol. Basel, Karger, 2009, vol. 163, 54-9
193. Jones S, Holmes CJ, Krediet RT, Mackenzie R, Faict D, Tranaeus A: Bicarbonate/lactate-based peritoneal dialysis solutions increases cancer antigen 125 and decreases hyaluronic acid levels. *Kidney Int* 2001; 59: 1529-38
194. Krediet RT: Dialysate cancer antigen 125 concentration as marker of peritoneal membrane status in patients treated with chronic peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2001; 21: 560-7
195. Rodrigues A, Martins S, Santos MJ: Evaluation of effluent markers cancer antigen 125, vascular endothelial growth factor and interleukin-6. Relationship with peritoneal transport. *Adv Perit Dial* 2004; 20: 8-12
196. De Vecchi AF, Bamonti-Caten F, Finazzi S, Campolo J, Taioli E, Nevembrino C, Colucci P, Accinni R, De Franceschi M, Fasano MA, Maiolo AT: Homocysteine, vitamin B12 and serum and erythrocyte folate in peritoneal dialysis and hemodialysis patients. *Perit Dial Int* 2000; 20: 169-73

197. Vychytil A, Fodinger M, Wolf G, Enzenberger B, Auinger M, Prischl F, Buxbaum M, Wiesholzer M, Mannhalter C, Horl WH, Sunder-Plassmann G: Major determinants of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1998; 53: 1775-82
198. Johnson DW, Kay TD, Verey DA, Isbel N, Campbell SB, Hawley CM: Peritoneal homocysteine clearance is inefficient in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2000; 20: 766-71
199. Moustapha A, Gupta A, Robinson K, Arheart K, Jacobsen DW, Schrieber MJ, Dennis VW: Prevalence and determinants of hyperhomocysteinemia in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 1470-5
200. Kendrick J, Teitelbaum I: Strategies for improving long-term survival in peritoneal dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1123-31
201. Mujais S, Story K: Peritoneal dialysis in the US: evaluation of outcomes in contemporary cohorts. *Kidney Int* 2006; 103: S21-6
202. Shlipak M, Fried L, Cushman M, Manolio TA, Peterson D, Stehman-Breen C, Bleyer A, Newman A, Siscovick D, Psaty B: Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA* 2005; 293: 1737-45
203. Xiaoxiang G, Hui Z, Jiangong N, Dongfeng T, Jaffer AA, Qingyi W: Polymorphisms of TGF and VEGF genes and survival of patients with gastric cancer. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Researc.* 2012; 28(1): 1-8
204. Canhui J, Aihong W, Jianmin C, Xiaonmin L, Gongping W: Relationship between expression and prognostic ability pf PTEN, STAT3 and VEGF-C in colorectal cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2012; 4: 633-9
205. Li Z, Qi L, Zhang H, Chen M, Wang L, Zu X: VEGF-C as a decision-making biomarker for selected patients with invasive bladder cancer who underwent bladder-preserving radical surgery. *Arch Med Res* 2011; 42: 405-11

8

LISTA SKRAĆENICA

PD	peritoneumska dijaliza
HD	hemodijaliza
ICAM	međucelijske adhezivne molekule (<i>intercellular adhesion molecule</i>)
Ca	kalcijum
SCWT	transport malih materija rastvorenih u vodi (<i>solute coupled water transport</i>)
FWT	slobodan prenos vode (<i>solute-free water transport</i>)
TCUF	ukupna transkapilarna ultrafiltracija (<i>total transcapillary ultrafiltration</i>)
AQP	akvaporina (<i>aquaporin</i>)
GDP	degradacioni proizvodi glukoze (<i>glucose degradation products</i>)
Na	natrijum
Mg	magnezijum
Cl	hloridi
HCO ₃	bikarbonati
PET	test peritoneumskog ekvilibrijuma (<i>peritoneal equilibrium test</i>)
CAPD	kontinuirana ambulatorna peritoneumska dijaliza (<i>continuous ambulatory peritoneal dialysis</i>)
CCPD	ciklična kontinuirana peritoneumska dijaliza (<i>cyclic continuous peritoneal dialysis</i>)
APD	automatska peritoneumska dijaliza (<i>automated peritoneal dialysis</i>)
EMT	epitelno-mezenhimalna tranzicija
ZO	<i>zonula occludens</i>
FSP	fibroblast-specifični protein (<i>fibroblast-specific protein</i>)
α -SMA	alfa-glatkomišićni aktin (<i>α-smooth muscle actin</i>)
β -gal	β -galaktosidaza
TGF- β	transformišući faktora rasta- β (<i>transforming growth factor-β</i>)
PDGF	faktor rasta trombocita (<i>platelet-derived growth factor</i>)
EGF	faktor rasta endotela (<i>endothelial growth factor</i>)
IGF	faktor rasta sličan insulinu (<i>insulin-like growth factor</i>)
FGF	faktor rasta fibroblasta (<i>fibroblast growth factor</i>)
HGF	faktor rasta hepatocita (<i>hepatocyte growth factor</i>)
BMP	koštani morfogenetski protein (<i>bone morphogenic protein</i>)
MMP	metaloproteinaze matriksa (<i>matrix metalloproteinase</i>)
Ca125	karcinomski antigen 125 (<i>cancer antigen 125</i>)
OC125	antitelo na antigen 125 ovarijalnog karcinoma
VEGF	faktor rasta vaskularnog endotela (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
IL-8	interleukin-8 (<i>interleukin-8</i>)
RCC	reaktivna karbonilna jedinjenja (<i>reactive carbonil compounds</i>)
AGE	krajnji proizvod glikolizacije belančevina (<i>advanced glycation end products</i>)
NO	azotni oksid
eNOS	sinetaza endotelnog NO (<i>endothelial NO synthase</i>)
HIF-1	faktor rasta 1 indukovano hipoksijom (<i>hypoxia inducible factor</i>)
PKC	protein kinaza C (<i>protein kinase C</i>)
NF- κ B	nuklearni faktor-kappa beta
3,4-DGE	3,4-doksiglukozon-3-en
RAGE	receptor za AGE (<i>receptor of AGE</i>)

MCP-1	monocitnog hemoatraktivnog proteina-1 (<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>)
VEGFR	receptora za VEGF
Flt-1	transmembranski tirozin-kinazni receptor (<i>Flt-like tyrosine kinase</i>)
Flk-1	transmembranski tirozin-kinazni receptor (<i>fetal liver kinase</i>)
OLETF pacovi	<i>Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats</i>
ZDF pacovi	<i>Zucker Diabetic Fatty rats</i>
MUC	mucin
PK	peritoneumski kateter
MTAC	koeficijent masenog transporta u odnosu na površinu (<i>mass transfer area</i>)
IgG	imunoglobulin G
PCR	<i>polymerase-chain reaction</i>
K	kalijum
P	fosfati
Fe	feremija (Fe)
TIBC	ukupni kapacitet vezivanja gvožđa (<i>total iron binding capacity</i>)
PTH	parathormon
GLDH	glutamat dehidrogenaza
RLUS	jedinice relativne svetlosti
DTT	ditriotreitol (DTT) I
SAH	S-adenozil homocistein
ND	nedetaktibilno
D/D ₀	koncentracija glukoze u dijalizatu/koncentracija glukoze u dijalizatu na početku dijalizne izmene
D/P:	koncentracija kreatinina u dijalizatu/koncentracija kreatinina u plazmi
Low	spor
Low Avg	srednje spor
High	brz
High Avg	srednje brz
K	dijalizni klirens uree
t	trajanje dijalize
V	volumen distribucije uree, koji aproksimativno odgovara ukupnom volumenu telesne vode
DV	24-časovni drenirani dijalizat u litrima
UV	24-časovna diureza u litrima
D/P	koncentracija uree u dijalizatu/ koncentracija uree u plazmi
U/P	koncentracija uree u urinu/ koncentracija uree u plazmi
TV	telesna visina
TT	telesna težina
S	starost
Ccr	klirens kreatinina
D/P _{Kreatinin}	koncentracija kreatinina u dijalizatu/koncentracija kreatinina u plazmi
U/P _{Kreatinin}	koncentracija kreatinina u urinu/koncentracija kreatinina u plazmi
BSA	površina tela (<i>body surface area</i>)
nPCR	normalizovana katabolizma belančevina (<i>normalized protein catabolic rate</i>)
GUN	jačina generacije uree (<i>urea nitrogen generation rate</i>)
V _{UN}	koncentracija uree u urinu
D _{UN}	koncentracija uree u dijalizatu
SD	standardna devijacija
TM	telesna masa
BM	telesna masa (<i>body mass</i>)

SM	svetlosna mikroskopija
HE	hematoksilin-eozin
KS	krvni sud
kv	kolageno vlakno
Xsr	srednja vrednost
DL	dijametar lumena
DZ	debljina zida
TEM	transmisiona elektronska mikroskopija
Pc	peritonealna duplja
M	mezotelna ćelija
LP	lamina propria
F	fibroblast
n	jedro (<i>nucleus</i>)
mv	mikrovili
v	vezikule
d	dezmozomi
c	kolagen
BV	krvni sud (<i>blood vessel</i>)
E	endotelna ćelija
BM	bazalna membrana
PC	pericit
ROC	<i>receiver operating characteristic curve</i>

BIOGRAFIJA KANDIDATA

Nataša Jovanović rođena je 16. aprila 1962. godine u Zemunu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu juna 1987. godine, sa prosečnom ocenom 8,5. Položila je specijalistički ispit iz Interne medicine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu januara 1997. godine sa odličnom ocenom.

Magistarsku tezu pod naslovom "Usklađivanje doze peritoneumske dijalize i nutricionog statusa bolesnika" odbranila je decembra 2000. godine i rad uže specijalizacije iz nefrologije pod naslovom "Anemija i adekvatnost dijalize kod bolesnika lečenih kontinuiranom ambulatornom peritoneumskom dijalizom" odbranila je jula 2002. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Autor je i koautor više stručnih radova publikovanih u domaćim i stranim časopisima i monografija Medicinskog Fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Zaposlena je na Klinici za Nefrologiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а МАТАЈА ЈОВАНОВИЋ

број уписа _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

ИСТРАЖИВАЊЕ О ПЕДИГОГИЦИ НАСТАВНИКА ЗА РЕЦИТОРСКУМ
ДИДАКТИКИ РА КАТАЛОГИСТИКЕ ПОЛИМАЛЕ РЕЦИТОРЦИЈА

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

Потпис докторанда

У Београду, ДЕЦЕМБАР 2013.

Матаја Јовановић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора МАТАЈА ЈОВАНОВИЋ

Број уписа _____

Студијски програм _____

Наслов рада ИСТИС ЛАЗИЋИЋИ МАТИЉА ЗА РЕВИТОПЕНСКИ ЛИЏИЗМ НА
КАНАЛ. ЕМИСИЈЕ РЕВИТОПЕНСКИ

Ментор ПРОФ. ДР. БИЉАНА СТОЈИЋИЋИЋ

Потписани МАТАЈА ЈОВАНОВИЋ

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

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

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

Потпис докторанда

У Београду, ДЕСЕМБАР 2013.

Матаја Јовановић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

ИТИКАС МАТИЦИТИ И МАСТУОМА ЗА РЕПОЗИТОРИЈУМ
ДИЗАЈНИ НА КАРАКТЕРИСТИКЕ НЕМАЛЕ РЕПОЗИТОРИЈА

која је моје ауторско дело.

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

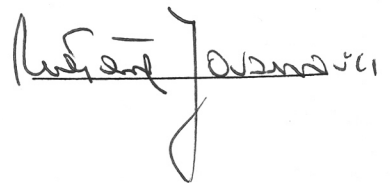
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, ДЕСЕМБАР 2013.



1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.