

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Bojan D. Stopić

**Prediktori nepovoljnih kardiovaskularnih  
događaja u različitim stadijumima hronične  
bolesti bubrega**

Doktorska disertacija

Beograd, 2022.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF MEDICINE

Bojan D. Stopić

**Predictors of Adverse Cardiovascular Events in  
Different Stages of Chronic Kidney Disease**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2022.

**Mentor:** Prof. dr Nada Dimković, redovni profesor Interne medicine u penziji, Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu

**Komentor:** Doc. dr Branislava Medić Brkić, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu

**Članovi komisije:**

1. Prof. dr Milica Dekleva Manojlović, redovni profesor Interne medicine, Kliničko bolnički centar Zvezdara, Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu
2. Doc. dr Katarina Savić Vujović, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Višnja Ležaić, redovni profesor Interne medicine u penziji, Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu
4. Dr Mirjana B. Čolović, viši naučni saradnik, Laboratorija za fizičku hemiju, Institut za nuklearne nauke „Vinča”, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerzitet u Beogradu
5. Prof. dr Dejan Petrović, redovni profesor Interne medicine, Klinika za nefrologiju i urologiju, Klinički centar Kragujevac, Fakultet medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu

Datum odbrane doktorske disertacije:

## ***Izjava zahvalnosti***

*Ovaj rad ne bi bio ostvaren da nije bilo podrške, saveta i pomoći kolega, prijatelja i porodice, ukratko velikog broja divnih ljudi, a imao sam privilegiju da u najbitnijim životnim momentima i prekretnicama budem okružen njima.*

*Neizmerno sam zahvalan mojoj bivšoj načelnici, mentoru i učitelju prof. dr Nadi Dimković za veliku pomoć i savete tokom izrade ove doktorske disertacije. Njena istrajnost, strpljenje i iskustvo ne poznaju granice.*

*Veliku zahvalnost dugujem doc. dr Branislavi Medić Brkić, komentoru na izradi doktorske disertacije, na nesebičnoj podršci, savetima i zalaganju da naš rad bude još bolji.*

*Ovaj rad su pomogli, svako na svoj jedinstven način odgovorno i posvećeno, kolege Sreten Budisavljević i doc. dr Marko Stojanović, doktor bioloških nauka Sandra Dragičević, prijatelji asist. dr Jovana Todorović i doktor Željko Davidović kao i medicinske sestre Ljiljana Savić, Branka Marković i Divna Milivojević.*

*Hvala i članovima komisije za ocenu doktorske disertacije prof. dr Milici Deklevi Manojlović, doc. dr Katarini Savić Vujović, prof. dr Višnji Ležaić, višem naučnom saradniku dr Mirjani Čolović i prof. dr Dejanu Petroviću na više nego korisnim savetima koji su doprineli da ovaj rad bude još bolji.*

*Zahvalnost dugujem mojoj porodici, roditeljima Dragomiru i Gordani, sestri Mileni i bratu Radovanu, mojim najboljim prijateljima koji su uvek bili tu kada je bilo potrebno, kada smo delili dobro i zlo, zajedno tugovali zbog naših neuspeha i kada smo se radovali našim zajedničkim uspesima. Neka ovaj veliki uspeh bude samo jedan u nizu kojima ćemo se zajedno radovati. Ne bih izostavio Radoja i Radmilu, Miluna i Nevenu koji su uvek bili bitan deo moga života i najbližeg kruga ljudi koje podjednako volim i poštujem i prepoznajem kao meni najbliže. Hvala i mojoj Jeleni koja je uvek bila tu kada je bilo najpotrebnije.*

*Na kraju ne mogu da ne spomenem moj voljeni Zlatibor i moje Zlatiborce kojima se dičim i kojima sa ponosom pripadam.*

***Bojan Stopić***

# Prediktori nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u različitim stadijumima hronične bolesti bubrega

## Sažetak

**Uvod:** Hronična bolest bubrega (HBB) je bitan faktor koji doprinosi povećanju sveukupnog morbiditeta i mortaliteta u grupi nezaraznih bolesti, a ujedno je prepoznata kao snažan i nezavisan faktor rizika koji doprinosi nastanku kardiovaskularnih bolesti (KVB). Teški kardiovaskularni (KV) događaji predstavljaju oko 50% uzroka svih smrtnih ishoda u populaciji bubrežnih bolesnika. KV bolesti istovremeno predstavljaju i grupu bolesti koje značajno utiču na povećanje troškova koji se izdvajaju za prevenciju, lečenje i rehabilitaciju bubrežnih bolesnika. KVB su posledica delovanja velikog broja faktora rizika poput tradicionalnih i netradicionalnih tj. uremija specifičnih faktora rizika pri čemu su svi bili predmet velikog broja istraživanja čiji rezultati nisu mogli da objasne nepovoljan KV ishod bubrežnih bolesnika. To je zahtevalo ispitivanje velikog broja kliničkih, radioloških i biohumoralnih prediktora pogotovu u ranim fazama bubrežnih bolesti kada su preventivne mere najdelotvornije, tj. u bolesnika sa klirensom kreatinina ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Među ispitivanim potencijalnim prediktorima ističu se biomarkeri inflamacije (Interleukin 18 - IL-18), oksidativnog stresa (*Ischemia modified albumin* - IMA; superoksid dizmutaza - SOD), akutnog oštećenja bubrega (*Kidney injury molecule-1* - KIM-1; *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* - NGAL) i mikroribonukleinske kiseline (specifična mikroRNK-133a). Našom studijom želeli smo da ispitamo povezanost tradicionalnih i faktora rizika vezanih za HBB, primenjene terapije i novijih, ređe ispitivanih biomarkera sa nastankom incidentnih KV događaja kod bubrežnih bolesnika, a ujedno i da definišemo potencijalne prediktore KV obolevanja i ukupnog mortaliteta u HBB počevši od stadijuma 3a (jačina glomerulske filtracije – JGF manja od 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>).

**Materijal i metode:** Studija je dizajnirana kao longitudinalna studija praćenja u trajanju od 18 meseci tokom koje je registrovan svaki novonastali KV događaj. U studiju su uključeni bolesnici koji se prate, leče ili dijaliziraju na Kliničkom odeljenju za nefrologiju i metaboličke poremećaje sa dijalizom „Prof. dr Vasilije Jovanović, Kliničko bolničkog centra Zvezdara.“ Takođe, u studiju su kao kontrola uključeni zdravi ispitanici, zdravstveni radnici zaposleni na pomenutom odeljenju. Ukupno je uključeno 87 bolesnika i 8 zdravih kontrola. Navedeni ispitanici raspoređeni su u pet grupa: grupa hemodijaliznih (HD) bolesnika (N=24); grupa bolesnika stadijuma 4 HBB (eJGF 29-15 ml/min) (N=21); grupa bolesnika stadijuma 3b HBB (eJGF 44-30 ml/min) (N= 23); grupa bolesnika stadijuma 3a HBB (eJGF 59-45 ml/min) (N=19); kontrolna grupa zdravih osoba (N= 8). Na početku studije i posle 12 meseci praćenja urađen je ehokardiosonografski pregled bolesnika. Na početku studije uzete su standardne laboratorijske analize i biomarkeri inflamacije (IL-18), oksidativnog stresa (SOD, IMA), akutnog oštećenja bubrega (KIM-1, NGAL) i mikroRNK-133a. Dobijeni rezultati su poređeni između grupa bolesnika sa i bez KV događaja, sa i bez hipertrofije leve komore (HLK), sa i bez napredovanja HBB i između preživelih i preminulih bolesnika. Takođe, ispitan je i uticaj najčešće primenjivane terapije (ACE inhibitori, sartani, antiagregansi, kalcijumski antagonisti, agensi stimulacije eritropoeze) na dobijene vrednosti biomarkera, kao i korelacija biomarkera sa standardnim laboratorijskim analizama, ehokardiosonografskim parametrima i faktorima rizika.

**Rezultati:** U našoj ispitivanoj populaciji bolesnika najčešći uzroci nastanka HBB bili su hipertenzivna nefroangioskleroza (50,6%) i dijabetesna nefropatija (34,5%). Tokom 18 meseci praćenja primećen je najveći morbiditet kod bolesnika petog stadijuma HBB (45,9%) a potom i četvrtog (21,6%) i 3b (24,3%) stadijuma što je u skladu sa ranijim KDIGO (*The Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) argumentom da incidenca KV bolesti raste sa padom JGF ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Tokom praćenja registrovani su sledeći KV događaji: nestabilna angina pektorisa, akutni infarkt miokarda,

cerebrovaskularni insult, periferna arterijska bolest, dekompenzovana srčana slabost i iznenadna srčana smrt. Značajni prediktori KVB bili su primena antagonista kalcijuma, agenasa stimulacije eritropoeze, vrednost albumina, ureje i veličina interventrikularnog septuma (IVS). Upotreba kalcijumskih antagonista dovodi do povećanja KV morbiditeta i mortaliteta kod obolelih od HBB pa sa njihovom primenom imamo 23,3 puta veću verovatnoću od razvijanja KV događaja. Bolesnici koji su imali agens stimulacije eritropoeze u redovnoj terapiji anemije bubrežnog porekla imali su 99% manju verovatnoću za nastanak KV događaja. Ujedno sa svakim povećanjem vrednosti albumina za 1g/l dolazi do smanjenja verovatnoće nastanka KV događaja za 40%. Sa svakim povećanjem vrednosti ureje za 1 mmol/l dolazi do povećanja verovatnoće nastanka KV događaja 1,33 puta, dok sa svakim povećanjem debljine IVS za 1mm verovatnoća nastanka KV događaja povećava se za 3,82 puta. Bolesnici sa progresijom slabosti bubrega imali su inicijalno niže vrednosti kalcijuma i albumina, odnosno više vrednosti paratiroidnog hormona (PTH) u odnosu na bolesnike bez progresije bubrežne slabosti. PTH se pokazao kao jedini značajni faktor rizika povezan sa napredovanjem bubrežne bolesti pa tako sa svakom jedinicom povećanja intaktnog PTH za 1 pg/ml dolazi do 1,06 puta veće verovatnoće za dalje napredovanje HBB. Jedino se hemoglobin pokazao kao faktor povezan sa nastankom smrtnog ishoda kod obolelih od HBB; sa svakom jedinicom povećanja hemoglobina za 1g/dl krvi dolazi do smanjenja verovatnoće nastanka smrtnog ishoda za 79%. Napredovanjem hronične bubrežne bolesti zapaža se pad u vrednosti KIM-1, NGAL-a, porast vrednosti SOD kao i povišena ekspresija mikroRNK-133a dok se ne registruju promene u vrednostima IL-18 i IMA. Po pitanju primenjene terapije primećeno je da su beta blokatori značajno povećavali vrednost SOD, a snižavali vrednost IL-18, i da je primena agenasa stimulacije eritropoeze značajno povećavala vrednost SOD i smanjivala vrednost NGAL-a. Primećena je i razlika u ispitivanim biomarkerima kod bolesnika sa i bez pojedinih faktora rizika pa je tako vrednost mikroRNK-133a značajno snižena uz prisustvo dijabetes melitusa i hiperlipoproteinemije (HLP) nezavisno od stadijuma HBB, vrednost SOD značajno snižena uz prisustvo HLP nezavisno od stadijuma HBB i vrednost IL-18 i IMA značajno snižene u osoba muškog pola u odnosu na osobe ženskog pola. I pored primećene korelacije ispitivanih biomarkera sa većim brojem ispitivanih laboratorijskih i ehokardiosonografskih parametara nije primećena njihova razlika između poređenih grupa pa su tako bili bez značajnog uticaja na nastanak kardiovaskularnih događaja, na napredovanje HBB i preživljavanje bolesnika.

**Zaključak:** Faktori povezani sa nastankom KV događaja u ispitivanoj populaciji HBB bili su primena kalcijumskih antagonista i agenasa stimulacije eritropoeze, vrednosti IVS, albumina i ureje, dok je jedini faktor povezan sa preživljavanjem bolesnika bila vrednost hemoglobina. Sa progresijom HBB dolazi do pada vrednosti KIM-1, NGAL biomarkera, odnosno do povećanja vrednosti SOD i povećanja ekspresije mikroRNK-133a. Faktor povezan sa napredovanjem HBB bila je vrednost PTH. Primena beta blokatora značajno povećava vrednost SOD a snižava vrednost IL-18, odnosno primena agenasa stimulacije eritropoeze značajno povećava vrednost SOD i smanjuje vrednost NGAL-a.

**Ključne reči:** Hronična bolest bubrega, kardiovaskularne bolesti, prediktori, biomarkeri.

**Naučna oblast:** Medicina.

**Uža naučna oblast:** Medicinska farmakologija.

**UDK broj:**

# Predictors of Adverse Cardiovascular Events in Different Stages of Chronic Kidney Disease

## Abstract

**Introduction:** Chronic kidney disease (CKD) is an important factor that contributes to the increase of overall morbidity and mortality in the group of non-communicable diseases, and it is also recognized as a strong and independent risk factor that contributes to cardiovascular diseases (CVDs). Severe cardiovascular (CV) events account for 50% of all deaths in the CKD population. At the same time, CV diseases represent a group of diseases that significantly increase the costs allocated for the prevention, treatment, and rehabilitation of kidney patients. CVDs are a consequence of the action of a large number of risk factors among which are traditional and non-traditional, *i.e.* uremia specific. These risk factors have been the subject of a large number of studies whose results could not explain the unfavorable CV outcome of CKD patients. Therefore, valid studies about clinical, radiological, and biohumoral predictors are of particular importance, especially in the early stages of renal disease *i.e.* in patients with creatinine clearance below 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup> when preventive measures are most effective. Among potential predictors of adverse CV outcome are biomarkers of inflammation (*Interleukin 18* - IL-18), oxidative stress (*Ischemia modified albumin*-IMA; *Superoxide dismutase*-SOD), acute kidney injury (*Kidney injury molecule-1* - KIM-1; *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*-NGAL), and microribonucleic acids (specific microRNA-133a). In our study, we aimed to examine the relationship between traditional and CKD-related risk factors, applied therapy, and newer, less frequently studied biomarkers with the occurrence of incidental CV events in renal patients. In addition, we tried to define potential predictors of CV disease and total mortality in patients starting from 3a stage of CKD (glomerular filtration rate - GFR below 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>).

**Material and methods:** The study was designed as a longitudinal follow-up study lasting 18 months during which each newly emerged CV event was registered. The study included 87 patients who were monitored, treated or dialyzed at the Clinical Department of Nephrology and Metabolic Disorders with dialysis "Prof. Dr. Vasilije Jovanović", Clinical Hospital Center Zvezdara. Also, eight healthy employees at the same department were included as a control group. All subjects were divided into five groups: group of hemodialysis (HD) patients (N=24); groups of CKD patients stage 4 (eGFR 29-15ml/min, N=21); group of CKD patients stage 3b (eGFR 44-30 ml/min, N=23); group of CKD patients with stage 3a (eGFR 59-45 ml/min, N=19) and control group of healthy individuals (N=8). At the beginning of the study and after 12 months of follow-up, an echocardiasonographic examination was performed. Standard laboratory analyzes and biomarkers of inflammation (IL-18), oxidative stress (SOD, IMA), acute kidney damage (KIM-1, NGAL) and microRNA-133a were taken at the beginning of the study. The obtained results were analyzed depending on the CKD stage, newly diagnosed CV events, presence of left ventricular hypertrophy (LVH), presence of CKD progression, and outcome (survival). Also, the influence of the most frequently used therapy (ACE inhibitors, sartans, antiplatelet agents, calcium antagonists, erythropoiesis stimulating agents) on the obtained values of biomarkers was examined, as well as the correlation of biomarkers with standard laboratory analysis, echocardiasonographic parameters and risk factors.

**Results:** In our study population, the most common causes of CKD were hypertensive nephroangiosclerosis (50.6%) and diabetic nephropathy (34.5%). During 18 months of follow-up, the highest morbidity was observed in patients with stage five CKD (45.9%) and then in patients with stage four (21.6%) and 3b (24.3%), which is consistent with the previous KDIGO (*The Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) argument that the incidence of CV disease increases with a drop in GFR below 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. The following CV events were registered during follow-up: unstable angina pectoris, acute myocardial infarction, cerebrovascular stroke, peripheral arterial disease,

decompensated heart failure and sudden cardiac death. Significant predictors of CVD were the use of calcium antagonists, erythropoiesis-stimulating agents, albumin, urea values and interventricular septum (IVS) size. The use of calcium antagonists leads to an increase in CV morbidity and mortality in patients with CKD, so with their use, there is 23.3 times more likelihood to develop CV events. Patients who had an erythropoiesis-stimulating agent in regular therapy for renal anemia were 99% less likely to develop CV events. At the same time, with each increase in albumin by 1 g/L, there is a decrease in the probability of occurrence of CV events by 40%. With each increase in urea by 1 mmol/L, the probability of occurrence of CV events increases by 1.33 times, whereas with each increase in the thickness of IVS by 1 mm, the probability of occurrence of CV events increases by 3.82 times. Patients with LVH at the beginning of the study had lower hemoglobin and higher phosphorus values compared to patients without LVH, however, this significance was not confirmed by further statistical analysis. Patients with the progressive renal failure had lower calcium and albumin and higher of parathyroid hormone (PTH) level initially as compared with patients without progression of renal failure. PTH was shown to be the only significant risk factor associated with the progression of renal failure, and with each unit of intact PTH increase by 1 pg/ml there is a 1.06-fold higher probability of further progression of CKD. Only hemoglobin was shown to be a risk factor for mortality in CKD patients; with each increase in hemoglobin by 1 g/dl, the probability of death decreased by 79%. With the progression of CKD, a decrease in the level of KIM-1, NGAL, and an increase in the level of SOD as well as increased expression of microRNA-133a were observed but changes in the levels of IL-18 and IMA were not registered. Regarding the applied therapy, beta-blockers significantly increased the level of SOD and decreased the level of IL-18, while the use of erythropoiesis-stimulating agents significantly increased the level of SOD and decreased the level of NGAL. Differences in the examined biomarkers were associated with the presence of some risk factors: the level of microRNA-133a was significantly reduced in the presence of diabetes mellitus and hyperlipoproteinemia (HLP) regardless of CKD stage, SOD level was significantly reduced in the presence of HLP regardless of CKD stage and IL-18 level and IMA were significantly reduced in males compared to females. Despite the observed correlation of the examined biomarkers with a large number of laboratory and echocardiographic parameters, their difference between the compared groups was not observed, so they were without significant influence on the occurrence of cardiovascular events, CKD progression, and patient survival.

**Conclusion:** Factors associated with the incident CV events in the studied CKD population were the use of calcium antagonists and stimulators of erythropoiesis, IVS size, albumin, and urea levels, whereas the only factor associated with patient survival was hemoglobin value. With the progression of CKD, there is a decrease in the value of KIM-1 and NGAL biomarkers and an increase in the level of SOD and expression of microRNA-133a. The factor associated with CKD progression was the PTH value. The use of beta-blockers significantly increased the level of SOD and decreased the level of IL-18. The use of erythropoiesis-stimulating agents significantly increased the level of SOD and decreased the level of NGAL.

**Key words:** Chronic kidney disease, cardiovascular diseases, predictors, biomarkers.

**Scientific field:** Medicine.

**Scientific subfield:** Medical pharmacology.

**UDC number:**



# Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Epidemiologija kardiovaskularnih bolesti u hroničnih bubrežnih bolesnika.....	1
1.2. Faktori rizika kardiovaskularnog obolevanja.....	2
1.2.1. Tradicionalni faktori rizika .....	3
1.2.1.1. <i>Dijabetes melitus</i> .....	3
1.2.1.2. <i>Hipertenzija</i> .....	4
1.2.1.3. <i>Pušenje</i> .....	4
1.2.1.4. <i>Hiperlipidemija</i> .....	5
1.2.1.5. <i>Pol</i> .....	5
1.2.1.6. <i>Starost</i> .....	6
1.2.2. Netradicionalni faktori rizika.....	6
1.2.2.1. <i>Inflamacija</i> .....	6
1.2.2.2. <i>Oksidativni stres</i> .....	6
1.2.2.3. <i>Anemija</i> .....	7
1.2.2.4. <i>Malnutricija</i> .....	7
1.2.2.5. <i>Poremećaj metabolizma minerala</i> .....	8
1.3. Biomarkeri kardiovaskularnih bolesti hroničnih bubrežnih bolesnika .....	8
1.3.1. Biomarkeri poremećaja metabolizma minerala i kalcifikacija .....	9
1.3.2. Kardiospecifični biomarkeri .....	10
1.3.3. Elektrokardiografski i radiološki markeri.....	11
1.3.4. Biomarkeri inflamacije .....	12
1.3.5. Biomarkeri oksidativnog stresa.....	12
1.3.6. Biomarkeri akutnog oštećenja bubrega.....	13
1.3.7. Mikroribonukleinske kiseline .....	14
1.3.8. Biomarkeri i dijaliza .....	15
2. Ciljevi istraživanja .....	16

3. Materijal i metode .....	17
3.1. Ispitanici.....	17
3.2. Registrovanje kardiovaskularnih događaja, preživljavanje bolesnika i napredovanje hronične bolesti bubrega.....	19
3.3. Laboratorijske analize .....	18
3.3.1. <i>Ispitivani biomarkeri</i> .....	19
3.4. Ehokardiografski pregled.....	19
3.5. Statistička analiza.....	20
4. Rezultati .....	21
4.1. Analiza bolesnika.....	21
4.1.1 Analiza svih bolesnika .....	21
4.1.1.1. <i>Osnovne karakteristike bolesnika</i> .....	21
4.1.1.2. <i>Standardne laboratorijske analize i terapija</i> .....	22
4.1.1.3. <i>Ehokardiografski parametri</i> .....	23
4.1.2. Analiza bolesnika sa i bez kardiovaskularnih događaja .....	24
4.1.2.1. <i>Osnovne karakteristike bolesnika i terapija</i> .....	24
4.1.2.2. <i>Standardne laboratorijske analize</i> .....	27
4.1.2.3. <i>Ehokardiografski parametri</i> .....	28
4.1.3. Analiza bolesnika sa i bez hipertrofije leve komore .....	29
4.1.3.1. <i>Standardne laboratorijske analize</i> .....	29
4.1.4. Analiza bolesnika sa napredovanjem i bez napredovanja hronične bolesti bubrega .....	30
4.1.4.1. <i>Standardne laboratorijske analize</i> .....	30
4.1.4.2. <i>Ehokardiografski parametri</i> .....	30
4.2. Analiza biomarkera u različitim stadijumima hronične bolesti bubrega .....	31
4.2.1 <i>Kidney injury molecule-1</i> .....	31
4.2.2. <i>Neutrophil gelatinase associated lipocalin</i> .....	32
4.2.3. <i>Superoksid dismutaza</i> .....	33
4.2.4. <i>Ischemia Modified Albumin</i> .....	33
4.2.5. <i>Interleukin-18</i> .....	33
4.2.6. <i>Mikroribonukleinska kiselina 133-a</i> .....	35

4.3. Povezanost biomarkera sa tradicionalnim faktorima rizika.....	35
4.3.1 Mikroribonukleinska kiselina 133-a .....	36
4.3.2 Superoksid dismutaza.....	37
4.3.3. Interleukin-18 i Ischemia modified albumin .....	37
4.3.4. Markeri akutnog oštećenja bubrega .....	38
4.4. Povezanost biomarkera sa hroničnom terapijom .....	39
4.5. Korelacija biomarkera i standardnih laboratorijskih analiza .....	39
4.6. Korelacija biomarkera i ehokardiosonografskih parametara .....	41
4.7. Biomarkeri i incidentni kardiovaskularni događaji.....	43
4.8. Biomarkeri i hipertrofija leve komore .....	43
4.9. Biomarkeri i napredovanje hronične slabosti bubrega.....	44
4.10. Prediktori kardiovaskularnog obolevanja u hroničnih bubrežnih bolesnika.....	44
4.11. Prediktori napredovanja hronične bolesti bubrega .....	47
4.12. Preživljavanje ispitivanih bolesnika .....	47
5. Diskusija .....	49
6. Zaključci .....	62
7. Literatura.....	64

# 1. Uvod

## 1.1. Epidemiologija kardiovaskularnih bolesti u hroničnih bubrežnih bolesnika

Hronična bolest bubrega (HBB) je sve bitniji faktor koji doprinosi povećanju sveukupnog morbiditeta i mortaliteta u grupi nezaraznih bolesti, a ujedno je prepoznata kao snažan i nezavisan faktor rizika koji doprinosi nastanku kardiovaskularnih bolesti (KVB).<sup>1,2</sup> Bolesti poput srčane slabosti, koronarne arterijske bolesti, srčanih aritmija i nagle srčane smrti su među najčešćim uzrocima povećanog morbiditeta i mortaliteta u HBB, a teški kardiovaskularni (KV) događaji predstavljaju gotovo 50% uzroka svih smrtnih ishoda u populaciji bubrežnih bolesnika.<sup>3,4</sup> Bolesnici u završnom stadijumu HBB koji se nalaze na hroničnom programu lečenja dijalizom imaju mortalitet koji je deset do dvadeset puta veći u odnosu na populaciju bolesnika bez postavljene dijagnoze HBB usled dejstva većeg broja raznolikih KV faktora rizika koji se mogu svrstati u grupu tradicionalnih (arterijska hipertenzija, hiperlipidemija, dijabetes melitus, starost, pušenje) i netradicionalnih faktora rizika (inflamacija, oksidativni stres, malnutricija, anemija, poremećaj metabolizma minerala, proteinurija, hipervolemija).<sup>5,6,7</sup>

Koronarna arterijska bolest (KAB) predstavlja najčešću KVB u populaciji bubrežnih bolesnika i uzrok je smrtnog ishoda u 40-50% dijaliznih bolesnika.<sup>8</sup> Takođe, bolesnici i sa blago sniženom jačinom glomerulske filtracije (JGF) imaju povećan rizik od nastanka KAB, a sa daljim napredovanjem HBB dolazi do lineranog povećanja učestalosti KAB pa tako bolesnici sa stadijumom IIIa do IV HBB imaju približno dva puta, odnosno tri puta veći rizik za nastanak smrti u odnosu na bolesnike koji nemaju dijagnozu HBB.<sup>9,10</sup>

Cerebrovaskularne bolesti, a pogotovo cerebrovaskularni insult (CVI), predstavljaju česte bolesti u HBB s obzirom na singerističko dejstvo velikog broja faktora rizika.<sup>11</sup> Pojedine studije i meta-analize govore u prilog tome da sa padom vrednosti JGF ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> dolazi do značajnog povećanja verovatnoće i rizika nastanka CVI-a od čak 43%.<sup>12</sup> Očekivano, bolesnici na hroničnom programu lečenja dijalizom imali su tri puta veći rizik za nastanak ishemijskog, odnosno šest puta veći rizik za nastanak hemoragijskog CVI-a u odnosu na opštu populaciju.<sup>13</sup>

U samom vrhu KV komplikacija u populaciji bolesnika sa HBB svrstava se i hipertrofija leve komore (HLK) i sledstveno nastala srčana slabost (SS). HLK predstavlja snažan nezavisni prediktor KV mortaliteta u HBB i prevashodno nastaje na terenu hipertenzije, anemije, hipervolemije i sekundarnog hiperparatireoidizma.<sup>14,15,16</sup> Prevalenca HLK u HBB kreće se oko 40% sa postepenim porastom učestalosti pa tako bolesnici u završnom stadijum HBB imaju prevalencu HLK i do 75%.<sup>17,18,19</sup> Incidenca novonastale SS, kako sa očuvanom tako i sa sniženom ejectionom frakcijom, kreće se od 17 do 21% i dovodi do značajnog povećanja broja dana hospitalizacije, KV i opšteg mortaliteta u obolelih od HBB.<sup>20,21,22,23</sup> Sa pogoršanjem HBB dolazi do povećanja prevalencije SS pa tako 44% bolesnika na dijalizi imaju postavljenu dijagnozu navedene KV bolesti.<sup>24</sup>

Treba pomenuti i perifernu arterijsku bolest (PAB) koja u populaciji bolesnika sa HBB, pogotovo kod dijaliznih bolesnika, svojom simptomatologijom značajno smanjuje kvalitet života sa mogućnošću nastanka komplikacija poput atrofije, ulceracije i gangrene donjih ekstremiteta. Bolest može dovesti do gubitka ekstremiteta i smrtnog ishoda što je kod bolesnika sa HBB daleko izraženije u odnosu na opštu populaciju.<sup>25</sup> Pojedine studije govore u prilog tome da bolesnici sa HBB i klirensom kreatinina koji je manji od 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> imaju višestruko veću prevalencu PAB u odnosu na grupu bolesnika sa klirensom kreatinina većim od 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>.<sup>26</sup>

Veoma je važno pomenuti iznenadnu srčanu smrt (ISS) koja podrazumeva neočekivan smrtni ishod KV uzroka sa ili bez strukturnog oštećenja i oboljenja srca.<sup>27</sup> KAB i SS kao izrazito prevalentne bolesti u populaciji bubrežnih bolesnika značajno doprinose nastanku ISS, a nekoliko randomizovanih kontrolisanih studija potvrdilo je da sa daljim napredovanjem HBB dolazi do sve veće učestalosti ISS.<sup>28</sup> Očekivano najveći broj ISS registrovan je u grupi bolesnika sa završnim stadijumom HBB.

KV bolesti u populaciji bolesnika sa dijagnozom HBB ne dovode samo do značajnog smanjenja kvaliteta života, ukupno povećanog morbiditeta i mortaliteta obolelih već predstavljaju i grupu bolesti koje značajno utiču na povećanje troškova koji se izdvajaju za bolničke dane hospitalnog lečenja, sprovedene dijagnostike i terapije obolelih kao i izdataka u cilju dalje rehabilitacije i troškova penziono-invalidskog osiguranja ove populacije bolesnika. Tako bolesnici na hroničnom programu lečenja dijalizom u proseku budu hospitalizovani 1,8 do 2,4 puta godišnje, a između 19% i 33% uzroka hospitalizacija se odnosi upravo na KV bolesti.<sup>29</sup> Troškovi lečenja su veći i usled prisustva velikog broja komorbiditeta koji doprinose kako napredovanju HBB tako i nastanku i pogoršanju postojećih KV bolesti, a u sklopu komorbiditeta izdvaja se arterijska hipertenzija, dijabetes melitus i anemija. Veliki broj studija, pogotovo iz Sjedinjenih Američkih Država, uspeo je da izračuna direktne troškove finansijskog opterećenja jednog zdravstvenog sistema u populaciji dijaliznih bolesnika pa tako godišnji troškovi lečenja hronične srčane slabosti (HSS) u grupi dijaliznih bolesnika iznose čak 681 miliona dolara.<sup>30</sup> Daljim istraživanjem po pitanju lečenja drugih hroničnih stanja i komplikacija kod dijaliznih bolesnika dolazi se do neverovatne sume pa tako troškovi lečenja PAB, KAB, aritmija, valvularnih srčanih bolesti i CVI iznose 2,68 milijardi dolara.<sup>30</sup> Primeri navedenih finansijskih izadataka govore u prilog tome koliko je važno sprovođenje pravovremene dijagnostike i terapije koja bi dovela ne samo do poboljšanja ishoda HBB i kvaliteta života bolesnika već i do značajnog smanjenja broja hospitalizacija, potrošnje medicinskih resursa, a samim tim i sveukupnog smanjenja direktnih i indirektnih troškova lečenja.

## **1.2. Faktori rizika kardiovaskularnog obolevanja**

Razlog izrazitog povećanja broja KV događaja sa napredovanjem HBB još uvek nije dovoljno ispitan, ali smatra se da je najvećim delom posledica kompleksnog mehanizma delovanja tradicionalnih i netradicionalnih KV faktora rizika.

Tradicionalni faktori rizika su dobro poznati i široko prisutni kako u opštoj, tako i u populaciji bolesnika sa HBB. Ispitani su i identifikovani u čuvenoj Framingamskoj studiji, a među navedene faktore rizika ubrajamo starost, muški pol, arterijsku hipertenziju (HTA), dijabetes melitus (DM), hiperlipidemiju (HLP) i pušenje.<sup>31,32</sup>

Netradicionalni faktori rizika (faktori u vezi sa napredovanjem HBB) predstavljaju drugu, široku grupu KV faktora rizika čija prevalenca raste sa padom JGF i prilično su svojstveni za HBB. Često se nazivaju KV faktorima rizika povezanim sa uremijom, a najvažniji među njima su anemija, mikroinflamacija, oksidativni stres, malnutricija i sekundarni hiperparatireoidizam (Tabela 1).<sup>33</sup>

**Tabela 1.** Faktori rizika kardiovaskularnog obolevanja

<b>Tradicionalni faktori rizika kardiovaskularnog obolevanja</b>	<b>Faktori kardiovaskularnog obolevanja specifični za hroničnu bolest bubrega</b>	
Starenje	Inflamacija	Anemija
Genetska predispozicija/nasleđe	Oksidativni stres	Endotelna disfunkcija
Postmenopauzalna hormonska promena	Uremijski poremećaj metabolizma ćelija	Brze volumne i elektrolitne dijalizne promene
Fizička neaktivnost	Malnutricija	Poremećaj koagulacije
Pušenje	Ponavljana intradijalizna hipotenzija	Imunosupresivna terapija po transplantaciji bubrega
Arterijska hipertenzija	Hiperhomocisteinemija	Poremećaji koagulacije
Dijabetes melitus	Hiperurikemija	Simpatička hiperaktivnost
Visok LDL holesterol	Visok IDL holesterol	Poremećaj spavanja
Nizak HDL holesterol	Leptin	Aritmijska nagla smrt
	Deficit karnitina	Srčana mikrovaskularna bolest
	Vaskularne kalcifikacije	Završni produkti glikolizacije
	Hipertrigliceridemija	Poremećena ravnoteža azotnog oksida
	Oksidacija LDL holesterola	Hipertrofija leve komore

### 1.2.1. Tradicionalni faktori rizika

#### 1.2.1.1. *Dijabetes melitus*

Dijabetes melitus (DM) predstavlja snažan, nezavisan faktor rizika koji se svrstava u grupu tradicionalnih faktora rizika, a koji doprinosi napredovanju HBB na terenu dijabetesne nefropatije i isto tako nastanku KV bolesti u čijoj se osnovi prevashodno nalazi ubrzan proces ateroskleroze koji pospešuje DM.<sup>34</sup> Sam rizik napredovanja HBB do završnog stadijuma veći je čak 12 puta kod bolesnika sa DM u odnosu na bolesnike koji nemaju postavljenu dijagnozu DM.<sup>35</sup>

Veliki broj studija govori u prilog tome da bolesnici sa DM i dijabetesnom nefropatijom kod kojih dolazi do smanjenja JGF i/ili pogoršanja albuminurije, imaju značajno veći KV morbiditet i mortalitet u odnosu na opštu populaciju.<sup>36</sup> Treba napomenuti da su pojedine studije došle do zaključka da ukoliko bolesnici sa DM nemaju dijabetesnu nefropatiju njihov mortalitet je gotovo istovetan mortalitetu bolesnika u opštoj populaciji.<sup>37-39</sup>

Razlog izrazito povećanog KV rizika kod bolesnika sa HBB i dijabetesnom nefropatijom je multifaktorijalan, kompleksan i još uvek nedovoljno prepoznat. DM uzrokuje čitav niz metaboličkih poremećaja (hiperlipidemija, hiperglikemija, insulinska rezistencija) koji doprinose napredovanju ateroskleroze i nastanku velikog broja makrovaskularnih i mikrovaskularnih komplikacija.<sup>40</sup> Takođe, kod bolesnika sa dijabetesnom nefropatijom izraženiji je učinak netradicionalnih faktora rizika koji doprinose još bržem razvoju ateroskleroze, a to su povećan oksidativni stres, inflamacija i albuminurija. Pokazalo se da HBB udružena sa DM predstavlja hiperkoagulabilno stanje koje doprinosi nastanku KV trombotičnih događaja.<sup>41</sup>

Na kraju, DM zajedno sa dijabetesnom nefropatijom značajno povećava KV rizik u populaciji bubrežnih bolesnika, a njihova glavna komplikacija-ateroskleroza, odgovorna je za 80% mortaliteta i 75% hospitalizacija obolelih od DM.<sup>40</sup>

### **1.2.1.2. Hipertenzija**

Arterijska hipertenzija (HTA) je još jedan tradicionalni faktor rizika koji je i uzrok i posledica HBB i doprinosi daljem padu JGF, a sa daljim padom JGF dolazi do nastanka sve ozbiljnije hipertenzije koja zahteva upotrebu sve većeg broja lekova za njeno regulisanje i lečenje.<sup>42,43</sup> Treba napomenuti da su HBB i HTA snažni, nezavisni faktori rizika koji pojedinačno, ali i zajedno još značajnije dovode do povećanog KV rizika. Prema KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) vodiču kod bolesnika sa JGF ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> rizik od nastanka KV smrti veći je nego rizik od završnog stadijuma HBB, a sama neregulisana i teška HTA dovodi do razvijanja hipertenzivne nefroangioskleroze i brzog pada JGF ispod navedene, rizične vrednosti za nastanak KV događaja.<sup>44</sup> Poznato je da je HTA, pored DM, jedan od vodećih uzroka nastanka završnog stadijuma HBB.

Sam postupak nastanka i pogoršanja HTA u HBB je kompleksan i posledica je povećanog simpatičkog tonusa, preterane aktivacije renin-angiotenzin-aldosteron sistema i zadržavanja vode i soli, nastanka endotelne disfunkcije i ateroskleroze. Sve navedeno uz doprinos drugih faktora rizika i komorbidnih stanja dovodi do povećanja ukupnog perifernog vaskularnog otpora i nastanka još teže i izraženije HTA.<sup>45</sup> Čak 80% bolesnika koji se nalaze na hroničnom programu lečenja dijalizom imaju HTA.

HTA kako u opštoj populaciji, a tako i u populaciji buburežnih bolesnika uzrok je nastanka mnogobrojnih KV komplikacija poput HLK sa nastankom srčane slabosti, KAB, CVI, PAB i srčanih aritmija. S obzirom da je HTA visoko prevalentna u populaciji bubrežnih bolesnika, a uzročnik je kako pogoršanja HBB tako i nastanka velikog broja KV događaja to govori u prilog važnosti blagovremenog dijagnostikovanja i uspešnog lečenja bolesnika sa HTA.

### **1.2.1.3. Pušenje**

Procenjeno je da je samo u 2010. godini pušenje na svetskom nivou bilo uzrok 6 miliona smrtnih ishoda.<sup>46</sup> Pušenje povećava rizik od velikog broja kardiovaskularnih, respiratornih, malignih obolenja pa čak i HBB.<sup>47</sup> S obzirom da su navedene bolesti daleko češće u populaciji bubrežnih bolesnika očekivano je da pušenje može da bude samo još jedan u nizu faktora koji će dovesti do povećanja morbiditeta i mortaliteta, pogotovo kardiovaskularnog.

Nekoliko velikih epidemioloških studija potvrdilo je štetnost delovanja pušenja, pa tako dijalizni bolesnici pušači imaju za 59% veći rizik za novonastalu srčanu slabost i za 37% veći rizik za nastanak smrtnog ishoda u odnosu na populaciju nepušača.<sup>48</sup> *Staplin* i saradnici dokumentovali su rezultate uticaja pušenja na preko 9,000 hiljada odraslih bolesnika sa dijagnozom HBB, da bi tokom petogodišnjeg praćenja 25% bolesnika imalo najmanje jedan vaskularni događaj, 34% razvilo je završni stadijum HBB, 7% je razvilo neki oblik maligniteta, a čak 24% je preminulo tokom perioda praćenja.<sup>49</sup> Zaključak je bio da kod HBB postoji 3,5 puta veći rizik za nastanak KV događaja kod pušača u odnosu na nepušače. U navedenoj studiji pušači su imali za 48% veći rizik od opštog smrtnog ishoda i za 35% veći rizik za vaskularnu smrt u odnosu na nepušače.<sup>49</sup>

U osnovi samog pušenja je razvoj aterosklerotskog sindroma, a u sklopu njega nalazi se čitav niz bolesti čija je klinička slika i simptomatologija daleko izraženija i teža u sklopu uremije. Pod navedenim bolestima podrazumevamo stabilnu anginu pektoris, akutni koronarni sindrom, CVI, ISS, PAB i aneurizmu abdominalne aorte.<sup>50</sup> Duvanski dim sa hiljadama toksičnih komponenti pomaže sve

faze u nastanku ateroskleroze tj. pomaže inflamaciju, oksidativni stres i trombozu što se odražava kako na nastanak KV događaja, tako i na napredovanje HBB.<sup>51</sup>

#### **1.2.1.4. Hiperlipidemija**

Poremećaj metabolizma lipida prisutan je već kod klirensa kreatinina ispod 50 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, a javlja se usled smanjene aktivnosti enzima poput lecitin holesterol acetil transferaze, hepaticne lipaze triglicerida i lipoproteinske lipaze, a aktivnosti enzima posledično je smanjena usled dejstva velikog broja uremijskih toksina i povećane koncentracije apolipoproteina C3.<sup>52,53</sup>

Hiperlipidemija je tradicionalni i snažan nezavisni faktor rizika za nastanak KV događaja u HBB, a pogotovo kod bolesnika na hroničnom programu lečenja hemodijalizom (HD) ili peritoneumskom dijalizom (PD). Ujedno je prediktor KV morbiditeta i mortaliteta bolesnika na dijalizi, ali samu hiperlipidemiju ne treba sagledavati izolovano već udruženo sa drugim, netradicionalnim faktorima rizika, pogotovo sa inflamacijom i malnutricijom.<sup>54</sup>

Pored faktora rizika za nastanak KV događaja, poremećaj metabolizma lipida je ujedno i faktor rizika koji doprinosi napredovanju HBB, a lipoproteini koji sadrže apo B imaju glavnu ulogu u napredovanju HBB. LDL lipoprotein podstiče glomeruloskleroze i oživljavanje tubulointersticijuma usled stimulacije proliferacije mezangijuma i povećanog oslobađanja proteina i medijatora koji doprinose celokupnom procesu glomeruloskleroze.<sup>55,56</sup> Na osnovu svega izloženog može se zaključiti da poremećaj metabolizma lipida može biti bitan faktor rizika koji doprinosi ubrzanom procesu ateroskleroze, nastanku KV događaja i napredovanju HBB.

#### **1.2.1.5. Pol**

Pol je nepromenljiv tradicionalni faktor rizika za nastanak KV bolesti, ali i faktor rizika za napredovanje HBB. U najvećem broju slučajeva žene imaju manju incidencu KV bolesti, ali osobe ženskog pola imaju težu kliničku prezentaciju, lošiju prognozu i veći mortalitet usled KVB.<sup>57</sup> KAB je jedan od vodećih uzroka smrti u muškoj populaciji i uzrok gotovo trećine smrtnih ishoda kod osoba ženskog pola.<sup>58</sup> U Zapadnim zemljama CVI je vodeći uzrok mortaliteta i hospitalnog lečenja kako za hemoragijski tako i ishemijski moždani udar.<sup>59</sup> Žene su najčešće imale CVI kao posledicu embolije, a muškarci lakunarne moždane udare.<sup>59</sup> Takođe, treba napomenuti da je incidenca CVI u osoba preko 85 godina bila veća kod osoba ženskog pola, ali u okviru mlađe starosne dobi žene nisu imale veću učestalost navedene bolesti.<sup>60</sup> Prevalenca za nastanak aneurizme abdominalne aorte je 4 do 6 puta veća kod muškaraca u odnosu na žene, ali bolesnice su imale veću šansu za rupturu, hospitalizaciju radi hirurškog lečenja i veći morbiditet.<sup>61,62</sup> I na kraju, žene su sklonije nastanku srčane slabosti i imaju veći broj hospitalizacija i mortalitet u odnosu na muškarce.<sup>63</sup>

Svakako postoji razlika u distribuciji, težini i učestalosti nastanka KVB između polova i pored toga što muškarci i žene dele zajedničke tradicionalne faktore rizika.<sup>64</sup> Ipak, polovi su podložniji štetnom delovanju pojedinih faktora pa tako veliki broj studija je potvrdio da veći uticaj na bolesnike muškog pola imaju starost, HTA, vrednost ukupnog holesterola i LDL-holesterola, dok DM, pušenje, vrednosti triglicerida i HDL holesterola imaju veći uticaj na bolesnice.<sup>65</sup>

Ustanovljeno je da napredovanje HBB prilično zavisi i od pola, pa tako muškarci imaju veću šansu ka napredovanju HBB i veću učestalost nastanka završnog stadijuma HBB u odnosu na žensku populaciju.<sup>66,67</sup> Navedeno je najverovatnije posledica različitih životnih navika između polova (stres, pušenje, ishrana, gojaznost, stepen fizičke aktivnosti), bioloških razlika (polni hormoni) i različite zastupljenosti i težine bolesti po polovima (HTA, DM, dislipidemija).



### 1.2.1.6. *Starost*

Starost je još jedan nepromenljiv tradicionalni faktor rizika za nastanak KV bolesti, ali i faktor rizika za napredovanje HBB. Ipak treba reći da starost sama po sebi može biti i odraz dužine i inteziteta delovanja drugih tradicionalnih i netradicionalnih faktora rizika.<sup>68,69</sup> Tokom višedecenijskog procesa starenja organizam akumulira veliki broj ćelijskih, tkivnih i organskih oštećenja sa posledično povećanim mortalitetom i morbiditetom, pa tako i kardiovaskularnim.<sup>70</sup> Sa dužim životnim vekom i većim brojem nezdravih životnih navika (ishrana, gojaznost, pušenje, konzumiranje alkohola, smanjena fizička aktivnost) nastaje prava epidemija KV bolesti i sve češće hospitalizacije na odeljenjima gerijatrije pa i šire, a vodeći uzroci hospitalizacije su dekompenzovana srčana slabost, ishemijska bolest srca i moždani udar.

Starenjem dolazi do povećanja prevalencije HBB, pa tako trećina obolelih sa preko sedamdeset godina ima JGF ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>.<sup>71,72</sup> Navedeno je posledica dugogodišnjeg i kumulativnog štetnog dejstva većeg broja faktora rizika, a pogotovo HTA i DM, i opadanja bubrežne funkcije koja je povezana sa godinama, a ne može se objasniti drugim poznatim faktorima rizika.<sup>72</sup> Izračunato je da klirens kreatinina prosečno opada za 0,75 ml/min po godini počevši od 39 godine života.

Može se zaključiti da starost kao nepromenljiv tradicionalni faktor rizika dovodi do pogoršanja HBB, a isto tako do nastanka kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti, gde u eri sve dužeg životnog veka imamo sve veću incidencu HBB i KV bolesti.

### 1.2.2. Netradicionalni faktori rizika

#### 1.2.2.1. *Inflamacija*

Inflamacija predstavlja sistemski odgovor organizma u kome učestvuje veliki broj faktora poput leukocita, citokina i komplemenata.<sup>73</sup> Sama HBB predstavlja hronično inflamatorno stanje koje započinje već u ranim stadijumima bubrežne bolesti, a potencijalni faktori i uzroci koji doprinose inflamaciji u HBB mogu biti ishemija, infekcija i uremija.<sup>73,74</sup> Inflamacija i mikroinflamacija (hronično stanje zapaljenja sa vrednostima C-reaktivnog proteina koji je veći od 10 mg/l) povećavaju rizik od nastanka KV događaja koji nastaju na terenu ateroskleroze.<sup>75</sup>

Inflamacija kao netradicionalni faktor rizika zajedno sa drugim iz ove grupe, kao i tradicionalnim faktorima doprinosi procesu nastanka, razvoja i ubrzanja ateroskleroze sa formiranjem i rupturiranjem plakova.<sup>33,76</sup> Samim tim dolazi do značajnog povećanja KV morbiditeta i mortaliteta usled nastanka velikog broja KV događaja, poput ishemijske bolesti srca, cerebrovaskularne i periferne arterijske bolesti.

Inflamacija kao hronično stanje povišenih vrednosti inflamatornih markera prisutna je u KV bolestima, procesu starenja organizma, metaboličkom sindromu, DM i HBB.<sup>77</sup> Veliki broj studija potvrdio je da je inflamacija ujedno i faktor rizika za napredovanje HBB na kompleksan i još uvek nedovoljno ispitan način.<sup>77</sup>

#### 1.2.2.2. *Oksidativni stres*

Postoji više definicija oksidativnog stresa, ali ukratko bi se mogao definisati kao oštećenje tkiva koje je nastalo usled poremećaja balansa između prooksidativnih sistema (slobodni kiseonični radikali) i antioksidativnih sistema (enzimski i neenzimski sistemi zaštite) u korist prooksidativnih.<sup>78</sup> Interakcijom slobodnih kiseoničnih radikala sa lipidima procesom peroksidacije dolazi do nastanka oštećenja najpre ćelijskih membrana, a zatim enzimskih sistema i nukleinskih kiselina.

Oksidativni stres kao još jedan netradicionalni faktor rizika doprinosi nastanku ateroskleroze koja je osnova najvećeg broja KV i cerebrovaskularnih bolesti, pogotovo kod bolesnika sa HBB. Sa daljim napredovanjem HBB dolazi do nastanka sve izraženijeg oksidativnog stresa pogotovu kod bolesnika koji se nalaze na hroničnom programu lečenja dijalizom. Navedeno je posledica smanjenja zaštitnih mehanizama (deficit vitamina C i E, minerala cinka i selena, inaktivnost glutation enzimskog sistema) i povećane prooksidativne aktivnosti (uremija, mikroinflamacija, starost, dijabetes melitus).<sup>78,79</sup>

U kompleksnom patofiziološkom mehanizmu nastanka ateroskleroze u sklopu povećanog oksidativnog stresa veliku ulogu ima štetno dejstvo superoksidnog anjona, ali ne treba zaboraviti ni uticaj oksidativnog stresa na napredovanje HBB.<sup>80</sup> Samo napredovanje HBB je posledica štetnog dejstva slobodnih kiseoničnih radikala koji dovode do povećanog stvaranja citokina i ushodne regulacije faktora rasta sa sledstvenim oštećenjem endotela kapilara. To dovodi do nastanka glomeruloskleroze, fibroze tubulointersticijuma i albuminurije.<sup>81</sup>

Štetno dejstvo oksidativnog stresa je najizraženije u populaciji bolesnika na dijalizi i njegovo singerističko dejstvo sa velikim brojem drugih faktora rizika može donekle objasniti veliku prevalencu KV bolesti i mortaliteta.

### **1.2.2.3. Anemija**

U bolesnika sa HBB, anemija je multifaktorijalnog porekla, a najvećim delom je posledica smanjenog stvaranja eritropoetina i javlja se sa padom klirensa kreatinina ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>.<sup>82</sup> Predstavlja netradicionalni faktor rizika za nastanak KV bolesti i faktor rizika za pogoršanje HBB.

Anemija kao faktor rizika za napredovanje HBB deluje preko hipoksije i povećanog oksidativnog stresa. Navedeni mehanizmi uzrok su stimulacije fibroblastne aktivnosti i pojačanog stvaranja vanćelijskog matriksa sa posledičnim nastankom fibroze tubulointersticijuma. Fibroza dovodi do sve većeg gubitka peritubulskih kapilara i nastanka ishemijske, gubitka nefrona i pogoršanja HBB.<sup>83</sup>

Anemija je uzrok nastanka velikog broja KV komplikacija, na prvom mestu HLK usled povećanog srčanog rada. HLK je ekscentričnog tipa, a ukoliko potraje može doći i do težih komplikacija poput ishemijske bolesti srca i zastoje srčane slabosti.<sup>84</sup> Koliko je anemija značajan uzrok nastanka HLK govori i činjenica da svako smanjenje vrednosti hemoglobina za 10 g/l dovodi do povećanja indeksa mase leve komore za 10 g/m<sup>2</sup>.<sup>85</sup> Na kraju, epidemiološki podaci govore o velikoj prevalenci KV bolesti koje su posledica dejstva većeg broja faktora rizika, uključujući i anemiju, pa je tako prevalenca srčane slabosti i HLK u grupi hemodijaliznih bolesnika 39% i 75%.<sup>86, 87</sup>

Anemija kao netradicionalni faktor rizika za napredovanje HBB i nastanak KV događaja ujedno je i reverzibilan faktor rizika, pa njeno rano otkrivanje i lečenje značajno doprinosi smanjenju bubrežnih i KV komplikacija.

### **1.2.2.4. Malnutricija**

Malnutricija kao netradicionalni faktor rizika je česta u bolesnika sa HBB i pogotovo kod bolesnika na hroničnom programu lečenja dijalizom. Udružena je sa ozbiljnim gubitkom telesne težine, smanjenjem energetske rezervi (masno tkivo), smanjenjem mase gradivnih proteina (mišićna masa), a praćena je nižim vrednostima serumskih albumina, prealbumina i transferina.<sup>88</sup> Veliki broj studija govori da su znaci malnutricije prisutni u do 50% bolesnika na PD i čak do 76% bolesnika na HD.<sup>89,90</sup> Malnutricija je visoko prevalentna i kod bolesnika koji imaju HBB, a ne nalaze se na dijalizi.

Za razliku od opšte populacije malnutricija kod HBB je specifična jer je tesno povezana sa inflamacijom pa se smatra da veliko stvaranje proinflamatornih citokina dovodi do njihovog štetnog uticaja na gastrointestinalni trakt, smanjenja apetita, hidrolize proteina i gubitka mišićne mase što sve zajedno i posledično dovodi do malnutricije.<sup>91</sup>

Dobro je poznato ispitivanje MIA sindroma (malnutricija, inflamacija, ateroskleroza) u populaciji bubrežnih bolesnika koji je uzročnik povećanja opšteg i pogotovo KV morbiditeta i mortaliteta u navedenoj grupi bolesnika.<sup>92</sup> Radi se o prilično kompleksnoj interakciji između navedenih faktora rizika gde stanje hronične inflamacije dovodi do nastanka anoreksije, hipoalbuminemije i smanjenja mišićne mase. Malnutricija pojačava inflamaciju i zajedno sa njom ubrzava proces ateroskleroze, smanjuje srčanu kontraktilnost i pospešuje nastanak srčane slabosti.<sup>92</sup>

#### **1.2.2.5. Poremećaj metabolizma minerala**

Poremećaj metabolizma kalcijuma i fosfora nastaje vrlo rano tokom HBB, već kada dođe do pada JGF ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. U sklopu širokog i prilično kompleksnog niza poremećaja dolazi do nastanka hiperfosfatemije, hipokalcijemije i deficita aktivne forme vitamina D, što zajedno dovodi do sekundarnog hiperparatireoidizma (sHPT). sHPT je izuzetno bitan netradicionalni faktor rizika koji doprinosi nastanku vaskularnih i valvularnih kalcifikacija i dovodi do povećanog KV morbiditeta i mortaliteta tokom HBB.<sup>93</sup>

Nastanak kalcifikacija arterija i povećanje ukupnog perifernog vaskularnog otpora i nastanak/pogoršanje HTA dovode do opterećenja pritiskom leve komore srca, HLK a kasnije zastojne srčane slabosti. Takođe, nastale valvularne kalcifikacije uzrok su stečenih srčanih mana poput mitralne i aortne stenoze što dodatno pogoršava opterećenje pritiskom i HLK i srčanu slabost.<sup>94</sup> sHPT nije samo faktor rizika za nastanak srčane slabosti već i za nastanak i drugih KV bolesti poput ishemijske bolesti srca i sistemske ateroskleroze koja se može komplikovati nastankom PAB i CVI.

Treba napomenuti da je sHPT ujedno i faktor rizika za dalje napredovanje HBB pošto doprinosi razvoju i napredovanju kardiorrenalnog sindroma tipa IV.<sup>95</sup> Pravovremena dijagnoza sHPT sa terapijom u cilju korekcije poremećaja metabolizma kalcijuma i fosfora, nadoknade vitamina D i primenom drugih konzervativnih i/ili hirurških mera u cilju lečenja dovešće do usporavanja napredovanja HBB i smanjenja KV morbiditeta i mortaliteta.

### **1.3. Biomarkeri kardiovaskularnih bolesti hroničnih bubrežnih bolesnika**

Sve je aktuelnije ispitivanje biomarkera za predikciju KV morbiditeta i mortaliteta kako u opštoj populaciji tako i u populaciji bolesnika sa HBB, pogotovo onih sa klirensom kreatinina ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Navedena vrednost klirensa smatra se graničnim i početnim momentom u daljoj patogenezi i napredovanju HBB kada dolazi do ozbiljnog i značajnog skoka prevalencije KV bolesti te je od izuzetnog značaja rano otkviranje rizičnih bolesnika. U daljem toku teksta možemo sagledati pojedine markere (kliničke, radiološke, biohumoralne) koji su do sada ispitivani kao i novije biomarkere koji su predmet našeg istraživanja (Tabela 2).

**Tabela 2.** Biomarkeri kardiovaskularnog obolevanja u hroničnoj bolesti bubrega

Markeri oksidativnog stresa	Markeri akutnog oštećenja bubrega
Malondialdehid Asimetrični dimetilarginin Završni produkti glikolizacije	KIM-1 ( <i>kidney injury molecule-1</i> ) NGAL ( <i>neutrophil gelatinase associated lipocalin</i> )
Markeri srčanog oštećenja	Neurohormoni
Troponin H-FABP ( <i>Heart-type fatty acid-binding protein</i> )	Natriuretski peptidi Endotelin Arginin vazopresin
Markeri inflamacije	Metabolički hormoni
C-reaktivni protein IL- 6, IL-8, IL-18 Pentaksin 3	Adiponektin Leptin Kortizol
Markeri poremećaja metabolizma minerala	Markeri povezani sa matriksom
Osteoprotegerin Fetuin A Fibroblasni faktor rasta 23 Vitamin D/ paratireoidni hormon	Galektin 3 Matriks metaloproteinaza ST 2

### 1.3.1. Biomarkeri poremećaja metabolizma minerala i kalcifikacija

Kada znamo da oko 10% odraslih u opštoj populaciji ima neki oblik HBB, da je ova populacija bolesnika pod velikim rizikom od nastanka KV događaja i da čak do 50% ljudi umre od neke KV bolesti, a da ne stigne do završnog stadijuma HBB, sasvim je razumljiva neophodnost i insistiranje na otkrivanju prediktora i procene KV rizika.<sup>96,97,98</sup> Navedena predikcija se ne bazira samo na određivanju biomarkera već i na kliničkim parametrima, a najčešći ispitivani su u sastavu elektrokardiografije, ehosonografije i ostalih radioloških metoda (kompjuterizovana tomografija i rentgenografija). Neki od najčešće ispitivanih biomarkera navedeni su u Tabeli 2.

Postoji veliki broj visokospecifičnih markera za HBB koji su do sada ispitivani, a tiču se predikcije KV obolevanja u populaciji bubrežnih bolesnika. Oni se mogu podeliti u nekoliko grupa, a izdvajamo pojedine: minerali (fosfor, kalcijum i magnezijum), promoteri vaskularnih kalcifikacija (alkalna fosfataza, osteokalcin, osteonektin), inhibitori vaskularnih kalcifikacija (fetuin, osteopontin, matriks GLA-protein, osteoprotegerin) i kardiološki dijagnostički markeri (troponin, natriuretski peptidi).

Rutinski rađeni elektroliti iz seruma bolesnika poput magnezijuma, kalcijuma i fosfora, povezani su sa nastankom pojedinih KV događaja što je i njih učinilo interesantnim za procenu KV rizika. Niske vrednosti magnezijuma, kao i visoke vrednosti kalcijuma i fosfora povezane su sa većim rizikom za nastanak srčane slabosti, ali treba napomenuti i bitnu ulogu navedenih elektrolita u nastanku vaskularnih kalcifikacija i sledstvenih mnogobrojnih komplikacija.<sup>97,99</sup> Sa napredovanjem HBB dolazi do sve većeg povećanja vrednosti serumskog fosfora, a hiperfosfatemija je visoko prevalentna u završnom stadijumu HBB. Povišene vrednosti fosfora predstavljaju snažan, nezavisan faktor rizika za

opšti i KV morbiditet, dok studije govore da su vrednosti fosfora veće od 2,1 mmol/l povezane sa daleko većim mortalitetom u odnosu na bolesnike koji su imali niže vrednosti.<sup>100</sup>

Vaskularne kalcifikacije doprinose značajnom povećanju KV morbiditeta i mortaliteta u HBB što je dovelo do ispitivanja velikog broja markera koji se svrstavaju u grupe promotera i inhibitora kalcifikacija (Tabela 3). Osteokalcin, osteonektin i alkalna fosfataza su samo neki primeri promotera kalcifikacija. Osteonektin se nalazi u kalcifikovanim krvnim sudovima i pojedine studije tvrde da on može predvideti KV obolevanje.<sup>101</sup> Takođe, osteokalcin je prediktor opšteg i KV komorbiditeta.<sup>102</sup> FGF-23 (*Fibroblast growth factor-23*) je još jedan od markera koji stimuliše vaskularne kalcifikacije čije su povišene vrednosti povezane sa napredovanjem HBB, SS i KV bolestima u čijoj se osnovi nalazi ateroskleroza.<sup>103,104</sup>

U grupu endogenih inhibitora vaskularnih kalcifikacija ubrajamo pojedine molekule koji su ujedno ispitivani kao markeri KV odolevanja u HBB.<sup>105</sup> Fetuin A, *Klotho* koreceptor, osteopontin, osteoprotegerin i matriks Gla-protein su samo neki od ispitivanih inhibitora. Fetuin A smatra se inhibitorom ektopičnih kalcifikacija među kojima se nalaze i arterijske kalcifikacije i zabeležene su njegove niže vrednosti u HD populaciji, a pojedine studije povezuju navedeni marker sa povećanim mortalitetom dijaliznih bolesnika.<sup>106,107</sup> Niže vrednosti *Klotho* koreceptora povezane su sa ozbiljnijim formama KAB.<sup>108</sup> Utvrđena je i povezanost serumskog osteoprotegerina sa KV faktorima rizika u HBB.<sup>109</sup>

Paraoksonaza 1, asimetrični dimetilarginin, plazma faktor diferencijacije rasta 15, kalciproteinske partikule, leptin i adiponektin su samo još od nekih mnogobrojnih biomarkera čija je povezanost sa KV bolestima u HBB ispitivana.<sup>110</sup>

**Tabela 3.** Promoteri i inhibitori vaskularnih kalcifikacija u hroničnoj bolesti bubrega

Promoteri vaskularnih kalcifikacija	Inhibitori vaskularnih kalcifikacija
Alkalna fosfataza	Fetuin A
Osteokalcin	Osteopontin
Osteonektin	Osteoprotegerin
Fibroblastni faktor rasta-23	Matriks Gla-protein
Inflamatorni citokini	<i>Klotho</i> koreceptor
LDL-holesterol	HDL-holesterol
Starije životno doba	Magnezijum
Duži dijalizni staž	Neorganski pirofosfat

### 1.3.2. Kardiospecifični biomarkeri

Pojedini dijagnostički markeri, poput troponina za dijagnozu akutnog infarkta miokarda i natriuretskih peptida za srčanu slabost, pokazali su se ujedno korisnim biomarkerima za procenu rizika i predikciju budućih KV događaja.<sup>98</sup>

Troponin se pokazao kao bolji prediktor KV ishoda nego marker akutnih KV događaja u grupi bolesnika obolelih od HBB.<sup>111</sup> Povišene vrednosti troponina korelirale su sa lošijim KV ishodom i preživljavanjem bolesnika. Meta-analiza koja je uključila veći broj studija i veliki broj asimptomatskih bolesnika došla je do zaključka da su povišene vrednosti troponina povezane sa teškom, difuznom

KAB dijaliznih i nedijaliznih bolesnika i sa nepovoljnim ehokardiografskim nalazom i lošijim preživljavanjem bolesnika koji se nalaze na transplantacionoj listi.<sup>112</sup> Treba napomenuti da su referentne vrednosti troponina za postavljanje dijagnoze akutnog KV dešavanja u HBB više u odnosu na opštu populaciju.

BNP (*B-Type Natriuretic Peptide*) i NT-proBNP (aminoterminalni fragment BNP-a) kao pokazatelji dekompenzovane srčane slabosti mogu se koristiti i za dijagnozu i predikciju KV bolesti u HBB. Međutim, njihove uobičajene, standardne referentne vrednosti koje se koriste u opštoj populaciji u ovom slučaju treba da budu više. Navedeno je posledica smanjenog klirensa navedenih markera i korigovane vrednosti treba prilagoditi klirensu kreatinina ako je manji od 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. U studijama koje su uključivale PD i HD bolesnike potvrđena je prediktivna moć NT-proBNP-a za lošije preživljavanje i povećan rizik od KV mortaliteta.<sup>113,114,115</sup>

### 1.3.3. Elektrokardiografski i radiološki markeri

Pored biohumoralnih markera treba pomenuti i čitav niz kliničkih koje koristimo u svakodnevnom radu i dijagnostici, poput radioloških metoda, eho- i elektrokardiografije.

S obzirom na veliki broj KV smrtnih ishoda koji su posledica aritmija u populaciji obolelih od HBB, pogotovo dijaliznih bolesnika, došlo je do ispitivanja velikog broja elektrokardiografskih (EKG) parametara kao potencijalnih prediktora KV rizika. Veliki broj studija pokušavao je da ispita povezanost KV događaja sa EKG nalazima HLK, QRS kompleksom, QTc i PR intervalom kao i mnogim drugim pokazateljima. Ipak najveći broj studija govori u prilog prilične nepouzdanosti konvencionalnog EKG zapisa po ovom pitanju što je zahtevalo primenu naprednijih aparata i dalja istraživanja novijih EKG parametara i njihove povezanosti sa KV događajima.<sup>116</sup>

Od ehokardiografskih ispitivanih parametara izdvajamo pokazatelje HLK kao i E/e' odnos koji se pokazao kao snažan prediktor za nastanak KV događaja, a pogotovo za nastanak akutne srčane slabosti. E/e' odnos bio je povezan i sa ishemijskom bolesti srca i PAB indirektno.<sup>117</sup> S obzirom na poznatu činjenicu da većina bolesnika sa uznapredovalom HBB ima HLK, veliki broj studija bavio se ispitivanjem strukturnih i funkcionalnih parametara leve komore i njihove povezanosti sa opštim i KV morbiditetom i mortalitetom.<sup>118</sup> Za procenu KV rizika i predikciju KV događaja koriste se i druge ehosonografske metode poput *ankle brachial index* - ABI, debljine intima-media kompleksa zajedničke karotidne arterije i procena sadržaja kalcijuma u koronarnim arterijama.<sup>119,120</sup>

Od drugih radioloških tehnika koje procenjuju prisustvo kalcifikacija u arterijskim krvnim sudovima, a koje su pogotovo korišćene u populaciji dijaliznih bolesnika, izdvajamo Agatston i Adragao skor kao i skor kalcifikacije abdominalne aorte. Navedene tehnike su relativno jeftine, dostupne i pokazale su se prilično pouzdanim za predikciju KV rizika. Agatston skor je baziran na izračunavanju stepena kalcifikacije koronarnih arterija primenom kompjuterizovane tomografije srca i omogućava ranu stratifikaciju KV rizika i predikciju događaja.<sup>121,122</sup> Adragao skor (*Simple Vasculare Calcification Score-SVCS*) je baziran na proceni kalcifikacija ilijačnih, femoralnih, radijalnih i digitalnih arterija i sam sistem bodovanja je jednostavan za procenu KV rizika koji je povezan sa vaskularnim kalcifikacijama kod bolesnika koji se nalaze na hroničnom programu lečenja hemodijalizom.<sup>123</sup> Skor kalcifikacije abdominalne aorte (*Abdominal Aortic Calcification Score-AACS*) je još jedna jednostavna tehnika za procenu rizika za koju se ispostavilo da može da predvidi nastanak KAB kod HD bolesnika.<sup>124</sup>

Ne treba zaboraviti da procenu KV rizika i predikciju nastanka KV bolesti treba početi od samih faktora rizika, a pogotovo tradicionalnih.<sup>125</sup> Veliki broj studija ispitao je KV faktore rizika poput HTA, DM, pušenja, starosti, hiperlipidemije, ali i ranije KV događaje, hipoalbuminemiju, LVH i albuminuriju na nastanak KV bolesti u HBB. Posebno se treba osvrnuti na visokoprevalentnu HLK u HBB čijom ehosonografskom potvrdom imamo uvid u jako bitan prediktor KV morbiditeta i mortaliteta nezvano samo za populaciju bubrežnih bolesnika.<sup>126</sup>

Možemo zaključiti da dijagnostički markeri, ehosonografski parametri i najpre tradicionalni faktori rizika mogu doprineti ranoj proceni KV rizika u obolelih od HBB.

#### 1.3.4. Biomarkeri inflamacije

S obzirom na važnost inflamacije kao faktora koji utiče na nastanak ateroskleroze, veliki broj studija ispitivao je pojedine inflamatorne biomarkere radi predikcije KV događaja u populaciji bolesnika sa HBB. Najčešće ispitivani biomarkeri bili su interleukin-1, interleukin-6, C-reaktivni protein i faktor nekroze tumora.<sup>127,128</sup>

C-reaktivni protein (CRP) je najpoznatiji i najčešće korišćeni marker akutne faze systemske inflamacije u opštoj populaciji i populaciji bolesnika sa HBB.<sup>129</sup> Povišene vrednosti CRP-a prediktor su koronarnih događaja u opštoj populaciji, a nekoliko studija govori u prilog povezanosti navedenog markera sa opštim mortalitetom kod bolesnika sa završnim stadijumom bubrežne slabosti.<sup>130,131</sup> Koncentracija CRP veća od 10 mg/l ukazuje na mikroinflamaciju koja je prisutna kod velikog broja obolelih od HBB i predstavlja već pomenuti netradicionalni faktor rizika za nastanak KV događaja.

Interleukin 18 (IL-18) je sve češće pominjan i ispitivan biomarker inflamacije za predikciju nastanka KV događaja u HBB. IL-18 započinje kaskadu aktivacije drugih proinflamatornih citokina koji potom dovode do pokretanja odgovora Th1 ili Th2 limfocita. Navedenom aktivacijom limfocita dolazi do pokretanja imunološkog odgovora i ubrzavanja procesa ateroskleroze. Dokazano je da se IL-18 nalazi u visokim koncentracijama u aterosklerotskim plakovima i da doprinosi njihovoj destabilizaciji što može imati za posledicu nastanak akutnih ishemijskih događaja.<sup>132</sup> Na osnovu ranije rađenih studija, povećane vrednosti serumske koncentracije IL-18 predstavljaju važan pokazatelj KV mortaliteta obolelih od HBB.<sup>133</sup> Takođe, IL-18 može biti razmatran kao mogući biomarker nastanka budućih cerebrovaskularnih, KV i perifernih vaskularnih obolenja u završnom stadijumu HBB.<sup>134</sup>

#### 1.3.5. Biomarkeri oksidativnog stresa

Pošto oksidativni stres ima jednu od dominantnih uloga u patogenezi nastanka ateroskleroze kod bolesnika sa HBB, od velikog je značaja istražiti biomarkere oksidativnog stresa koji bi ujedno bili i prediktori za nastanak KV događaja u navedenoj populaciji bolesnika.<sup>135</sup> Navedena povezanost zapažena je i kod predijaliznih bolesnika, bolesnika na HD i PD. U većem broju studija ispitana je povezanost biomarkera sa nastankom KV bolesti, a među njima se ističu oksidovani LDL-holesterol, mijeloperoksidaza, molekuli lipidne i proteinske peroksidacije.<sup>136</sup>

Odbrana organizma od povećanog oksidativnog stresa prolazi kroz nekoliko linija odbrane, a u prvoj liniji su enzimi i enzimski sistemi (superoksid-dizmutaza, katalaza i glutation peroksidaza). U drugoj liniji su elementi koji se ponašaju kao „skupljači“ prooksidanasa čijim vezivanjem postaju manje štetni ili se u potpunosti neutrališu (ubikvinol, askorbinska kiselina, alfa tokoferol, glutation). U trećoj liniji odbrane su *de novo* stvoreni enzimi koji su zaduženi za popravku i otklanjanje štete koja je prouzrokovana od strane slobodnih kiseoničnih radikala (enzimi za popravku oštećenog molekula

DNK). U poslednju, četvrtu liniju odbrane, svrstavamo adaptacione mehanizme koji omogućavaju bržu i efikasniju borbu protiv slobodnih kiseoničkih radikala.<sup>140</sup> Kada sagledamo sve navedene grupe odbrane od oksidativnog stresa moguće je zaključiti da je najlakše ispitivati enzime kao potencijalne biomarkere oksidativnog stresa koji bi, između ostalog, mogli biti iskorišćeni za predikciju KV događaja.

Superoksid-dizmutaza (SOD) je najefikasniji intracelularni enzim u prvoj liniji odbrane protiv slobodnih kiseoničnih radikala.<sup>137</sup> U pojedinim studijama uočena je povezanost SOD sa pojedinim KV bolestima poput KAB.<sup>138,139</sup>

Ishemijom modifikovani albumin (IMA) predstavlja jedan od novijih biomarkera KV događaja koji je doveden u vezi sa stanjima koji u svojoj osnovi imaju ishemiju i povećan oksidativni stres poput ishemijske bolesti srca.<sup>140</sup> Navedeni biomarker može se najverovatnije posmatrati kao indirektni pokazatelj povišenog oksidativnog stresa, ishemije i hipoksemije. Istovremeno, IMA se pokazao kao prediktor mortaliteta bolesnika u završnom stadijumu HBB u pojedinim studijama.<sup>141</sup>

### 1.3.6. Biomarkeri akutnog oštećenja bubrega

Pored uloge u ranom otkrivanju novonastalog akutnog oštećenja bubrega, ispitivana je i njihova uloga tokom KV oboljevanja HBB. *Neutrophil gelatinase associated lipocalin* (NGAL) i *Kidney injury molecul-1* (KIM-1) su najčešće ispitivani iz pomenute grupe markera akutnog oštećenja bubrega (AOB) i potencijalno mogu imati ulogu u patogenezi nastanka HBB i predikciji KV događaja.

NGAL je mali protein koji se oslobađa iz tubulocita bubrega po dejstvu štetnog agensa. Jedan je od najčešće korišćenih i ispitivanih ranih pokazatelja akutnog oštećenja bubrega, ali poslednje studije govore o njegovoj ulozi u napredovanju HBB.<sup>142</sup> Takođe, opisano je i da povišena vrednost NGAL u plazmi obolelih od HBB može biti nezavisni prediktor budućih KV događaja.<sup>143</sup> Primećeno je da sa povećanjem vrednosti NGAL u urinu dolazi do povećanja incidencije ishemijskih aterosklerotskih događaja kod obolelih od HBB nezavisno od JGF, albuminurije i drugih komorbiditeta obolelih.<sup>144</sup>

KIM-1 se oslobađa tokom ishemijskog i toksičnog delovanja agenasa na proksimalne tubule bubrega. On je inicijalno predstavljao urinarni biomarker akutnog oštećenja bubrega, ali je dokazana njegova povezanost sa napredovanjem HBB.<sup>145</sup> Smatra se da učestvuje kako u patogenezi tako i u reparaciji bubrežnog tkiva i da je marker proliferacije i regeneracije proksimalnih tubulocita. Navodi se i njegova važnost za ranu dijagnozu, prognozu i terapijski efekat koji se tiče ne samo bubrežnih bolesti, već i srčane slabosti posle kardiopulmonalnog bajpasa, kardiorenalnog sindroma i kardiorakalnih hirurških intervencija.<sup>146</sup> Novije studije navode da povišene vrednosti urinarnog KIM-1 mogu biti povezane sa većim rizikom za nastanak ishemijske bolesti srca, srčane slabosti i ukupnog mortaliteta bolesnika obolelih od HBB tako da je neophodno dalje ispitivanje navedenog molekula kao potencijalnog biomarkera KV događaja.<sup>147</sup>

Samo ispitivanje markera akutnog oštećenja bubrega, a u ovom slučaju KIM-1 i NGAL, predstavlja prilično zanimljiv osvrt na ispitivanje prediktora za nastanak KV događaja u populaciji bolesnika sa HBB s obzirom da navedeni markeri nemaju direktno učešće u patogenezi KV bolesti. Ipak, KIM-1 i NGAL mogu ukazati na povezanost samog napredovanja bubrežne slabosti i smanjenja JGF sa nastankom KV događaja.



### 1.3.7. Mikroribonukleinske kiseline

Među novijim biomarkerima KV bolesti u populaciji bolesnika sa HBB nalaze se i mikroribonukleinske kiseline (mikroRNK). MikroRNK predstavljaju klasu nekodirajućih molekula ribonukleinske kiseline koje imaju bitnu ulogu u regulaciji ekspresije velikog broja gena, pogotovo onih koji se tiču normalnog funkcionisanja KV sistema. Navedeni molekuli učestvuju u regulaciji proliferacije, diferencijacije, apoptoze i tumorogeneze ćelija, a da bi ostvarili svoje dejstvo i stigli do ciljanih ćelija i tkiva sekretuju se u biološke tečnosti poput krvi i urina.<sup>148,149,150</sup> Njihova prisutnost u biološkim tečnostima, stabilnost, mogućnost detekcije i izolovanja, omogućilo je ispitivanje funkcije mikroRNK, detekcije njihovog velikog broja u animalnim i humanim modelima kao i njihovo ispitivanje u primeni dijagnostičko-terapijskih procedura.

Veliki broj dosadašnjih studija tiče se ispitivanje mikroRNK u fiziologiji i patofiziologiji KV sistema. Primera radi, mikroRNK 1, 208a/b, 499 i 133a najverovatnije su specifične za regulaciju normalnog funkcionisanja i razvića srca pošto učestvuju u regulaciji procesa diferencijacije prekursora kardiomiocita i u omogućavanju njihovog normalnog funkcionisanja i preživljavanja.<sup>151,152</sup> Svaki vid patološkog stanja i oboljenja koji dovodi do disregulacije pomenutih mikroRNK mogu dovesti do progresije SS, srčane fibroze i dilatacije koje bi bile komplikovane nastankom ishemijske i aritmija srca.<sup>151</sup>

Ateroskleroza, kao osnovni patofiziološki proces koji dovodi do KAB, PAB, moždanog udara i bolesti karotidnih arterija, regulisana je od strane većeg broja molekula mikroRNK. Postoje molekuli koji učestvuju u endotelnoj disfunkciji (mikroRNK-31, 126), razviću aterosklerotskog plaka (21, 155, 221), homeostazi holesterola (122, 33a/b), neoangiogenezi (155, 210, 221, 222), pa čak i u nastanku nestabilnosti i ruptur plaka (100, 127, 145). Navedeno samo objašnjava koliko je složena uloga mikroRNK, a pogotovo njena disregulacija koja će dovesti do nastanka oboljenja.<sup>151</sup>

Takođe, disregulacija mikroRNK postoji kod bolesnika kod kojih su prisutni faktori rizika koji dovode do nastanka KV obolevanja, pa tako na primer kod obolelih od DM tip II primećena je promena ekspresije mikroRNK-126 koja učestvuje u patofiziološkom procesu nastanka insulinske rezistencije.<sup>153,154</sup> Promene ekspresije raznih mikroRNK primećene su i kod drugih KV faktora rizika poput HTA, dislipidemije i starenja.<sup>155,156,157</sup>

Zbog svega navedenog veliki broj mikroRNK ispitani su kao potencijalni dijagnostički i prediktivni biomarkeri za različita oboljenja u sklopu KV sistema.<sup>158</sup> Do sada je otkriveno preko 2000 različitih mikroRNK uključujući i one potencijalno povezane sa patogenezom pojedinih KV bolesti. Promenjena ekspresija registrovana je u bolesnika sa HLK, KAB, SS, PAB i moždanom udaru.<sup>159-163</sup>

Ipak, treba napomenuti da je manji broj studija ispitao povezanost jedne određene mikroRNK sa nastankom KV događaja u populaciji bolesnika sa dijagnozom HBB, kao i njenu povezanost sa KV faktorima rizika i drugim komplikacijama u HBB.

U pojedinim studijama dokazana je promenjena ekspresija jednog specifičnog molekula mikroRNK-133a, kao i njegova povezanost sa pojedinim KV bolestima poput KAB, srčane slabosti i HLK kod bolesnika koji se nalaze na hroničnom programu lečenja hemodijalizom.<sup>158,163,164</sup>

Iako obećavajući, biomarkeri za predikciju KVB trenutno nisu dovoljno ispitani da bi se rutinski koristili kod obolelih od HBB te je neophodno njihovo dalje ispitivanje.

### 1.3.8. Biomarkeri i dijaliza

Postupak dijalize može dovesti do promene u koncentraciji pojedinih KV biomarkera što za posledicu može imati smanjenje njihove prediktivne moći i neadekvatnu procenu KV rizika. To se pogotovo odnosi na markere inflamacije i oksidativnog stresa.

Inflamacija u dijalizi posledica je bioinkompatibilnosti dijaliznih membrana, zapaljenskog procesa unutar vaskularnog pristupa i nedovoljne sterilnosti dijalizata, dok je oksidativni stres posledica same uremije, starenja i gubitka rezidualne bubrežne funkcije.<sup>165,166</sup>

U ranijim studijama potvrđeno je da samo jedna hemodijalizna sesija utiče na povećanje pojedinih markera inflamacije poput pentraksina-3 i visokosenzitivnog CRP-a, ali i na povećanje markera oksidativnog stresa poput serumskog malondialdehida.<sup>167</sup> Pojedini markeri mogu se i odstraniti tokom samog procesa dijalize i prečišćavanja krvi zavisno od veličine molekula. Navedeno dovodi do zaključka da je jedna od mana ispitivanih biomarkera i sam uticaj dijalize na koncentraciju biomarkera što može dovesti do problema u adekvatnom tumačenju dobijenih rezultata i korelacije sa KV događajima.

## 2. Ciljevi istraživanja

U cilju boljeg definisanja potencijalnih biomarkera KV obolevanja kod bolesnika sa HBB, ciljevi studije su:

1. Ispitati povezanost tradicionalnih faktora rizika (starost, pol, pušenje, hipertenzija, dijabetes melitus, hiperlipidemija, gojaznost) i faktora rizika vezanih za HBB sa nastankom incidentnih KV događaja kod obolelih od HBB.
2. Ispitati uticaj terapije koja se primenjuje u HBB (ACE-inhibitori, blokatori angiotenzin II receptora, statini, kalcijumski antagonisti, beta blokatori) na nastanak incidentnih KV događaja kao i njen uticaj na vrednost ispitivanih biomarkera.
3. Ispitati ulogu biomarkera u nastanku incidentnih KV događaja kod bolesnika sa HBB:
  - biomarkera inflamacije i oksidativnog stresa (IL-18, SOD, IMA)
  - biomarkera akutnog oštećenja bubrega (KIM-1 i NGAL)
  - mikroRNK-133a
4. Definirati potencijalne prediktore KV obolevanja i ukupnog mortaliteta u HBB.

## 3. Materijal i metode

### 3.1. Ispitanici

Studija je dizajnirana kao longitudinalna studija praćenja u trajanju od 18 meseci tokom koje je registrovan svaki novonastali KV događaj. U studiju su uključeni bolesnici koji se prate, leče ili dijaliziraju na Kliničkom odeljenju za nefrologiju i metaboličke poremećaje sa dijalizom „ Prof. dr Vasilije Jovanović, KBC Zvezdara.“ Takođe, u studiju su kao kontrola uključeni zdravi ispitanici, zdravstveni radnici zaposleni na pomenutom odeljenju.

*Kriterijumi za uključenje i isključenje bolesnika u studiju:* U studiju su uključeni bolesnici starosti preko 18 godina sa postavljenom dijagnozom HBB i JGF ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, koji nisu bili na nekom vidu imunosupresivne terapije. Takođe, uključeni bolesnici ranije nisu imali infarkt miokarda, cerebrovaskularni insult, dekompenzovanu srčanu slabost, nestabilnu anginu pektoris i klinički manifestnu perifernu arterijsku bolest. Hemodijalizni bolesnici su imali očuvanu diurezu i dijalizni staž duži od 6 meseci.

*Kriterijumi za uključenje zdravih ispitanika u studiju:* U studiju su uključeni zdravi ispitanici starosti preko 18 godina sa očuvanom bubrežnom funkcijom, bez KV i drugih bolesti, a samim tim nisu bili na nekom vidu terapije.

*Etičko odobrenje za rad studije:* Etička komisija Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu ocenila je etički podobnim i odobrila je sprovođenje navedenog istraživanja doktorske disertacije (broj odobrenja 2650/XII-6, datum odobrenja 20.12.2018. godine). Nakon usmenog i pismenog obaveštenja, ispitanici su dali pismenu saglasnost za učestvovanje u studiji.

*Podela bolesnika u grupe:* Rađena je na osnovu izračunate vrednosti glomerulske filtracije primenom MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) formule, a prema dobijenoj formuli bolesnici su razvrstani po stadijumima HBB. Stadijum III HBB podeljen je u dva stadijuma, IIIa i IIIb s obzirom da značajno povećanje KV morbiditeta i mortaliteta počinje od IIIb stadijuma.

Navedeni ispitanici raspoređeni su u pet grupa:

- grupa hemodijaliznih bolesnika (N=24)
- grupa bolesnika stadijuma IV HBB (eJGF 29-15 ml/min) (N=21)
- grupa bolesnika stadijuma IIIb HBB (eJGF 44-30 ml/min) (N= 23)
- grupa bolesnika stadijuma IIIa HBB (eJGF 59-45 ml/min) (N=19)
- kontrolna grupa zdravih osoba (N= 8)

Na početku studije uzorkovana je krv bolesnika radi određivanja vrednosti ispitivanih biomarkera. Takođe, na početku studije, a zatim posle 6 i 12 meseci praćenja uzorkovana je krv radi određivanja standardnih laboratorijskih analiza. Ehokardiosonografski pregled rađen je na početku studije i posle 12 meseci praćenja. Na početku studije uzeti su podaci iz lične, socijalno-epidemiološke i porodične anamneze ispitanika kao i iz postojeće medicinske dokumentacije. *Subgrupe bolesnika:* Tokom rada bolesnici su bili podeljeni u subgrupe shodno: nastanku KV događaja, napredovanju HBB, prisustvu HLK i preživljavanju.

### **3.2. Registrovanje kardiovaskularnih događaja, preživljavanje bolesnika i napredovanje hronične bolesti bubrega**

Pod novonastalim KV događajem podrazumevala se novonastala KV bolest ili KV smrt tokom vremenskog perioda praćenja. Tokom 18 meseci trajanja studije registrovani su sledeći novonastali KV događaji: nestabilna angina pektoris, infarkt miokarda, cerebrovaskularni insult, periferna arterijska bolest, srčana dekompenzacija i smrt kardiovaskularnog porekla.

Događaji su registrovani sa definisanim kriterijumima, po sprovedenom pregledu i dijagnostici, a kasnije i uvidom u medicinsku dokumentaciju (izveštaj lekara specijaliste/subspecijaliste, istorija bolesti, otpusna lista):

1. Nestabilna angina pektoris: klinička prezentacija stenokardije uz prateću simptomatologiju sa karakterističnim promenama u EKG zapisu i mirni kardiospecifični enzimi.
2. Akutni infarkt miokarda: klinička prezentacija stenokardije uz prateću simptomatologiju sa karakterističnim promenama u EKG zapisu i povišene vrednosti kardiospecifičnih enzima.
3. Cerebrovaskularni insult: pareza/plegija, poremećaj stanja svesti i govora uz drugu specifičnu simptomatologiju moždanog udara koji je potom potvrđen nalazom kompjuterizovane tomografije endokranijuma i pregledom neurologa.
4. Periferna arterijska bolest: klinička prezentacija klaudikacije, trofičke promene donjih ekstremiteta uz drugu specifičnu simptomatologiju periferne arterijske bolesti koja je potom potvrđena nalazom color doppler pregleda i pregledom vaskularnog hirurga.
5. Srčana dekompenzacija: klinička prezentacija u vidu gušenja, brzog zamaranja i otoka donjih ekstremiteta kao i druga prateća simptomatologija bolesti koja je potvrđena rentgenom srca i pluća i ehokardiosonografskim pregledom.
6. Srčana smrt: smrtni ishod koji je porekla neke KV bolesti što je i potvrđeno uvidom u medicinsku dokumentaciju na kraju perioda praćenja.

Na kraju praćenja od 18 meseci analizirano je preživljavanje, to jest smrtnost ispitanika koja je podrazumevala kako smrtni ishod kardiovaskularnog tako i nekardiovaskularnog porekla. Bolesnici sa smrtnim ishodom svrstani su u grupu „preminuli“ i poređeni su sa grupom „preživeli“ da bi potom bila urađena dalja statistička obrada i tumačenje dobijenih rezultata poređenjem grupa.

Svaki bolesnik sa najmanje jednim registrovanim KV događajem naknadno je svrstan u grupu bolesnika „sa razvijenim KV događajem“ radi dalje statističke obrade i tumačenja dobijenih rezultata.

Pod napredovanjem HBB podrazumevalo se smanjenje JGF kod bolesnika stadijuma IIIa, IIIb i IV koje je registrovano tokom trajanja studije. Bolesnici kod kojih je registrovano smanjenje JGF svrstani su u grupu „sa napredovanjem HBB“ i poređeni su sa grupom bolesnika „bez napredovanja HBB“ gde nije bila registrovana promena u JGF.

### 3.3. Laboratorijske analize

Standardne laboratorijske analize rađene su na početku studije, a zatim nakon 6 i 12 meseci od početka praćenja. Od analiza uzeta je kompletna krvna slika, osnovna biohemija (ukupni proteini, albumini, holesterol, trigliceridi, gvožđe, saturacija transferina, feritin, C- reaktivni protein, kreatinin, urea, mokraćna kiselina, kalcijum, fosfor), troponin i intaktni paratireoidni hormon (iPTH). Krv za analize uzorkovana je u jutarnjim časovima, 12 sati od poslednjeg obroka ispitanika. Kod hemodijaliznih bolesnika krv je uzorkovana pre dijalize, a posle najdužeg međudijaliznog perioda. Sve analize rađene su standardnim tehnikama kod 87 bolesnika.

Na Cobas 501 (Rosche Diagnostics) analizatoru rađeni su biohemijski parametri bolesnika. Parametri kompletne krvne slike su određivani na analizatoru XN1000 (Sysmex), a vrednosti iPTH određivane su na analizatoru Cobas e 411 rack (Rosche Diagnostics).

#### 3.3.1. Ispitivani biomarkeri

Biomarkeri su urađeni na početku studije tako što su vrednosti IL-18, IMA, SOD, KIM-1 i mikroRNK-133a dobijeni iz seruma, a NGAL iz urina bolesnika. Krv je prvo uzorkovana u epruvete bez antikoagulansa, a zatim centrifugirana na 4°C tokom 10 minuta i 3000 obrtaja po minutu, a serum je odvojen u kriotube i zamrznut na - 80°C do testiranja. Takođe, uzorkovani svež, jutarnji urin (sakupljen i od strane HD bolesnika sa očuvanom diurezom) bio je odvojen u kriotube i zamrznut na - 80°C do testiranja.

Biomarkeri (IL-18, IMA, SOD, KIM-1, NGAL) su testirani primenom ELISA tehnike (*Elabscience* ELISA kit).

Posebno je analizirana ekspresija mikroRNK-133a u serumu subpopulacije bolesnika (N=51) sa JGF ispod 45 ml/min/1,73m<sup>2</sup> koja je prema *KDIGO* smernicama posebno sklona nastanku čestih KV događaja.

Ukupna RNK je ekstrahovana iz svih uzoraka seruma korišćenjem *PureLink Viral RNA/DNA Mini kit* (Invitrogen, Valtham, SAD) u skladu sa protokolom proizvođača. Sama koncentracija i čistoća ukupne RNK određene su spektrofotometrijom korišćenjem BioDrop kiveta. Ista količina ukupne RNK korišćena je za obrnutu transkripciju primenom *TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit* (Applied Biosystems, Valtham, USA) po protokolu proizvođača. Koncentracija i čistoća RNK su određene UV apsorpcijom na 260/280 talasne dužine korišćenjem spektrofotometra. Obrnuta transkripcija izvedena je korišćenjem kompleta za obrnutu transkripciju *TaqMan MicroRNA* (Applied Biosystems, Valtham, USA) prema protokolu proizvođača.

Nivo mikroRNK-133a je merena primenom kvantitativne PCR (*Polymerase chain reaction*) u realnom vremenu (qRTPCR) korišćenjem *TaqMan miRNA probe* (test ID 002246, Applied Biosystems, Valtham, USA). Sve analize su izvršene u triplikatu. Za sve eksperimente, mikroRNK-16 je korišćen za normalizaciju kao unutrašnja kontrola (test ID 000391, Applied Biosystems, Valtham, USA).

Metoda qRTPCR je izvedena na 7500 PCR sistemu u realnom vremenu (Applied Biosystems, Valtham, USA) koristeći sledeći program: 50 ° C tokom 2 minuta; 95 ° C tokom 3 minuta; 40 ciklusa od 95 ° C tokom 15 sekundi i 60 ° C tokom 1 minuta.

Vrednost  $\Delta Ct$  mikroRNK-133a predstavlja razliku u nivou ciljanog mikroRNK-133a i endogene kontrole mikroRNK-16.  $\Delta Ct$  je izračunata prema sledećoj formuli:  $\Delta Ct = Ct [\text{mikroRNK-133a}] - Ct$

[mikroRNK-16]. Postoji inverzna korelacija između vrednosti  $\Delta Ct$  i nivoa mikroRNK-133a u serumu (ako je  $\Delta Ct$  smanjen, nivo mikroRNK-133a u serumu je povećan i obrnuto).

### 3.4. Ehokardiografski pregled

Standardni, transtorakalni ehokardiografski pregled urađen je na početku i posle 12 meseci studije. Pregled je urađen kako kod bolesnika tako i kod zdravih ispitanika. Ehokardiosonografski pregled kod hemodijaliziranih bolesnika urađen je 24h od prethodne dijalizne sesije. Pregled je rađen u 2D i M-moda primenom standardnih akustičkih prozora primenom Artida SSH-880 CV ultrazvučnog aparata od strane jednog iskusnog kardiologa, a intraobserverska varijabilnost bila je 4%. Mereni su sledeći parametri: dijametar leve pretkomore (LP), ejectiona frakcija leve komore (EF), masa leve komore (MLK), indeks mase leve komore (IMLK), debljina interventrikularnog septuma (IVS), debljina zadnjeg zida leve komore (ZZLK), E/A i E/e odnos. Vrednost IMLK ( $g/m^2$ ) dobijena je kada je dobijena vrednost MLK (g) podeljena sa telesnom površinom tela ( $m^2$ ). Vrednosti IMLK preko  $95 g/m^2$  za žene i preko  $115 g/m^2$  za muškarce bili su kriterijumi za postavljanje dijagnoze HLK. Sva merenja su obavljena u skladu sa preporukama Američkog društva za ehokardiografiju.<sup>168</sup>

Kod 11 bolesnika inicijalno nije bilo moguće ehokardiosonografski odrediti indeks mase leve komore (loš akustički prozor), a samim tim da li postoji hipertrofija leve komore. Ehokardiografski pregled nakon 12 meseci od početka praćenja nije bilo moguće uraditi kod 21 bolesnika zbog nastanka smrtnog ishoda ili napuštanja studije.

### 3.5. Statistička analiza

Statistička analiza je urađena metodama deskriptivne i analitičke statistike. Podaci su izraženi kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (SD) za kontinuirane varijable i procenat kao vrednosti za kategoričke varijable. Za testiranje normalnosti parametara korišćen je Kolmogorov–Smirnov test. Značajnost razlike učestalosti kategoričkih varijabli biće testirane uz pomoć Hi kvadrat testa.

Razlike između grupa analizirane su korišćenjem sledećih testova: Pirsonov  $\chi^2$  test, T-test za nezavisne uzorke, Mann Whitney U test za nezavisne uzorke kao i Kruskal Wallis test. Za korelaciju varijabli korišćen je Spearmanov korelacijski test. P-vrednost manja od 0,05 smatrana je statistički značajnom.

Varijable koje su se pokazale značajnim u univarijantnim modelima uključene su u multivarijantni model sa KV događajima kao ishodom varijablom. Povezanost vremena nastanka KV događaja i ispitivanih varijabli testirana je uz pomoć Koksovog regresionog metoda. Nakon kreiranja metoda, konstruisane su Kaplan Majerove krive za različite grupe bolesnika. Analize su urađene u statističkom paketu SPSS for windows 23.0.

## 4. Rezultati

### 4.1. Analiza bolesnika

#### 4.1.1 Analiza svih bolesnika

##### 4.1.1.1. Osnovne karakteristike bolesnika

Osnovne karakteristike bolesnika prikazane su u Tabeli 4. Studija je uključila ukupno 95 ispitanika, od toga 87 bolesnika sa postavljenom dijagnozom HBB (prosečna starost 67,2±11,7 godina, 60 muškaraca) i 8 zdravih ispitanika (prosečna starost 33,3±4,6 godina, 5 muškaraca). Najčešći uzroci nastanka HBB bili su hipertenzivna nefroangioskleroza (50,6%) i dijabetična nefropatija (34,5%). Od komorbiditeta, većina bolesnika imala je dijagnozu HTA (93,1%), dok je DM imalo 34,5% bolesnika. HLK je bila najzastupljenija u dijaliznoj i predijaliznoj grupi bolesnika ( $p=0,007$ ). Hiperlipidemija je bila najzastupljenija u HBB 3a grupi ( $p<0,001$ ), a gojaznost najmanje zastupljena u grupi hemodijaliznih bolesnika ( $p=0,039$ ).

**Tabela 4.** Osnovne kliničke karakteristike bolesnika uključenih u studiju po stadijumima hronične bolesti bubrega

	<b>HBB 3a</b> N=19	<b>HBB 3b</b> N=23	<b>HBB 4</b> N=21	<b>HBB 5HD</b> N=24	<b>p</b>
<b>Starost (godine)</b>	65,4±12,4	70,7±8,9	69,1±14,2	63,6±10,6	<b>0,024*</b>
<b>Pol (muško/žensko)</b>	16/3	13/10	14/7	17/7	0,416
<b>Osnovni uzrok HBB, n (%):</b>					
-Dijabetes melitus	11 (25)	9 (20,5)	10 (22,7)	14 (31,8)	0,330
-Arterijska hipertenzija	5 (16,7)	10 (33,3)	9 (30)	6 (20)	
-Kalkuloza bubrega	2 (33,3)	1 (16,7)	0 (0)	3 (50)	
-Policistična bolest bubrega	0 (0)	2 (60,7)	0 (0)	1 (33,3)	
-Vezikoureteralni refluks	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
-Glomerulonefritis	0 (0)	1 (33,3)	2 (66,7)	0 (0)	
<b>Komorbiditeti i tradicionalni faktori rizika, n (%):</b>					
-Stabilna angina pektoris	1 (14,3)	1 (14,3)	2 (28,6)	3 (42,9)	0,722
-Arterijska hipertenzija	16 (19,8)	22 (27,2)	20 (24,7)	23 (28,4)	0,392
-Dijabetes melitus	5 (16,7)	10 (33,3)	9 (30)	6 (20)	0,393
-Hiperlipidemija	11 (55)	5 (25)	3 (15)	1 (5)	<b>&lt;0,001*</b>
-Gojaznost	8 (30,8)	7 (26,9)	9 (34,6)	2 (7,7)	<b>0,039*</b>
-Pušenje	5 (20)	7 (28)	4 (16)	9 (36)	0,583
-Hipertrofija leve komore	7 (18,4)	7 (18,4)	11 (28,9)	13 (34,2)	<b>0,007*</b>

HBB= hronična bolest bubrega.



#### 4.1.1.2. Standardne laboratorijske analize i terapija

Sa pogoršanjem bubrežne funkcije i daljim napredovanjem HBB dolazi do nastanka sve izraženije anemije pa su tako najniže vrednosti izmerenog hemoglobina zabeležene u predijaliznoj i dijaliznoj grupi bolesnika ( $p < 0,001$ ). Takođe, dolazi do poremećaja metabolizma minerala (fosfor i kalcijum) i do porasta iPTH čije su najveće zabeležene vrednosti u 4 i 5HD stadijumu bolesti ( $p = 0,001$ ), a navedeno je praćeno porastom fosfora i padom vrednosti kalcijuma ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,007$ ). Istovremeno, dolazi do smanjenja vrednosti ukupnih proteina i albumina ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,001$ ) dok su značajno više vrednosti triglicerida zabeležene u HBB 3a stadijumu u odnosu na predijalizne i dijalizne bolesnike ( $p = 0,021$ ). Sa napredovanjem HBB zabeležen je porast vrednosti troponina i feritina ( $p = 0,002$ ;  $p = 0,041$ ).

**Tabela 5.** Laboratorijske analize i terapija bolesnika po stadijumima hronične bolesti bubrega na početku studije praćenja

	<b>HBB 3a</b> N=19	<b>HBB 3b</b> N=23	<b>HBB 4</b> N=21	<b>HBB 5HD</b> N=24	<b>P</b>
<b>Laboratorijski rezultati</b>					
Hemoglobin (g/dl)	13,8±1,3 <sup>#</sup>	12,6±1,5 <sup>#</sup>	11,2±1,6	10,3±1,0	<b>&lt;0,001*</b>
Kalcijum (mmol/l)	2,2±0,5*	2,3±0,1 <sup>#</sup>	2,2±0,1*	2,2±0,2	<b>0,007*</b>
Fosfor (mmol/l)	0,9±0,2 <sup>#</sup>	0,9±0,1 <sup>#</sup>	1,2±0,5*	1,5±0,5 <sup>#</sup>	<b>&lt;0,001*</b>
iPTH (pg/ml)	54±25 <sup>#</sup>	70±38 <sup>#</sup>	137±89	214±219	<b>0,001*</b>
Ukupni proteini (g/l)	73,7±6,4*	75,1±5,2*	74,6±5,6*	68,6±3,6	<b>&lt;0,001*</b>
Albumini (g/l)	41,3±4,7*	42,1±3,0*	40,7±3,9*	37,7±2,8	<b>0,001*</b>
Holesterol (mmol/l)	4,0±1,3	4,9±0,9	4,5±1,0	4,2±1,0	0,058
Trigliceridi (mmol/l)	2,8±1,8 <sup>#</sup>	2,0±1,3	1,6±1,2	1,8±1,2	<b>0,021*</b>
Mokraćna kiselina (mmol/l)	367±92	415±102	394±85	379±92	0,059
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	0,049±0,173 <sup>#</sup>	0,009±0,005*	0,020±0,035	0,075±0,097	<b>0,002*</b>
Feritin (ng/ml)	158±155	114±87 <sup>#</sup>	209±127	207±146	<b>0,041*</b>
C-reaktivni protein (mg/l)	4,1±5,2	4,4±5,1	4,6±5,0	5,7±6,0	0,674
<b>Terapija, n (%)</b>					
ACE inhibitori	14 (73,7)	17 (73,9)	15 (71,4)	16 (66,7)	0,944
Sartani	1 (5,3)	3 (13,0)	5 (23,8)	9 (37,5)	<b>0,050*</b>
Kalcijumski antagonisti	5 (26,3)	9 (39,1)	11 (52,4)	13 (54,2)	0,237
Beta blokatori	5 (26,3)	5 (21,7)	7 (33,3)	7 (29,2)	0,853
Statini	0 (0)	5 (21,7)	3 (14,3)	3 (12,5)	0,210
Antiagregansi	0 (0)	5 (21,7)	2 (9,5)	8 (33,3)	<b>0,023*</b>
Agensi stimulacije eritropoeze	0 (0)	1 (4,3)	8 (38,1)	23 (95,8)	<b>&lt;0,001*</b>

HBB = hronična bolest bubrega, iPTH = intaktni paratireoidni hormon, ACE = angiotenzin konvertujući enzim, \*statistički značajna razlika u poređenju sa CKD 5HD grupom ( $p < 0,05$ ), # statistički značajna razlika u poređenju sa CKD 4 grupom ( $p < 0,05$ ).

Što se tiče standardne, hronične terapije bolesnika uočena je značajnost po pitanju primene lekova iz grupe sartana, antiagreganasa i agensa stimulacije eritropoeze ( $p = 0,050$ ;  $p = 0,023$ ;  $p < 0,001$ ), te su navedene lekove najčešće koristili hemodijalizni bolesnici. U Tabeli 5. su prikazani rezultati urađenih laboratorijskih analiza na početku studije kao i standardna, hronična terapija koju su bolesnici dobijali.

#### 4.1.1.3. Ehokardiografski parametri

Ehokardiografski pregled srca rađen je na početku studije i posle 12 meseci praćenja (Tabela 6). Iz rezultata se može videti da sa napredovanjem HBB dolazi do porasta vrednosti MLK, IMLK (0 i 12 meseci) i IVS (12 meseci). Na početku, bolesnici iz HBB 3b grupe imali su manju MLK i IMLK naspram predijaliznih i HD bolesnika (MLK: HBB 3b vs. 4,  $p=0,002$ , HBB 3b vs. 5HD,  $p=0,007$ ; IMLK: HBB 3b vs. 4,  $p=0,003$ , HBB 3b vs. 5HD,  $p=0,021$ ).

**Tabela 6.** Ehokardiosonografski parametri po stadijumima hronične bolesti bubrega na početku i posle godinu dana praćenja

	HBB 3a N=19	HBB 3b N=23	HBB 4 N=21	HBB 5HD N=24	P
<b>EHO parametri na početku studije</b>					
Masa leve komore (g/m)	192±75	163±47**	215±52	200±48	<b>0,009*</b>
Indeks mase leve komore (g/m <sup>2</sup> )	95±31	90±21**	114±28	109±30	<b>0,015*</b>
Leva pretkomora (mm)	40±6	38±5	42±6	40±6	0,216
Ejekciona frakcija (%)	53±6	52±7	54±8	54±5	0,536
E/A odnos	1,1±0,5	1,4±2,1	0,8±0,4	0,8±0,1	0,080
E/e odnos	8,7±1,8	10,5±3,5	11,1±3,7	10,6±2,9	0,177
Zadnji zid leve komore (mm)	9,9±2,0	9,7±1,2	10,6±1,4	10,6±1,2	0,057
Interventrikularni septum (mm)	10,0±1,6	10,1±1,5	10,9±1,1	11,0±1,4	0,100
<b>EHO parametri posle godinu dana<sup>+</sup></b>					
Masa leve komore (g/m)	184±71	163±37**	214±64	217±43	<b>0,004*</b>
Indeks mase leve komore (g/m <sup>2</sup> )	93±29*	91±18*	110±33	122±30	<b>0,008*</b>
Leva pretkomora (mm)	41±7	37±5	42±5	38±5	0,091
Ejekciona frakcija (%)	51±7	51±4	53±7	54±4	0,106
E/A odnos	1,0±0,3	1,3±1,4	0,8±0,3	0,9±0,2	0,291
E/e odnos	9,8±2,6	12,7±3,6	12,7±4,8	12,4±4,2	0,139
Zadnji zid leve komore (mm)	9,7±1,4	9,5±1,1	10,2±1,3	10,5±1,3	0,133
Interventrikularni septum (mm)	9,9±1,6*	10,0±1,2*	10,5±1,6	11,3±1,1	<b>0,019*</b>

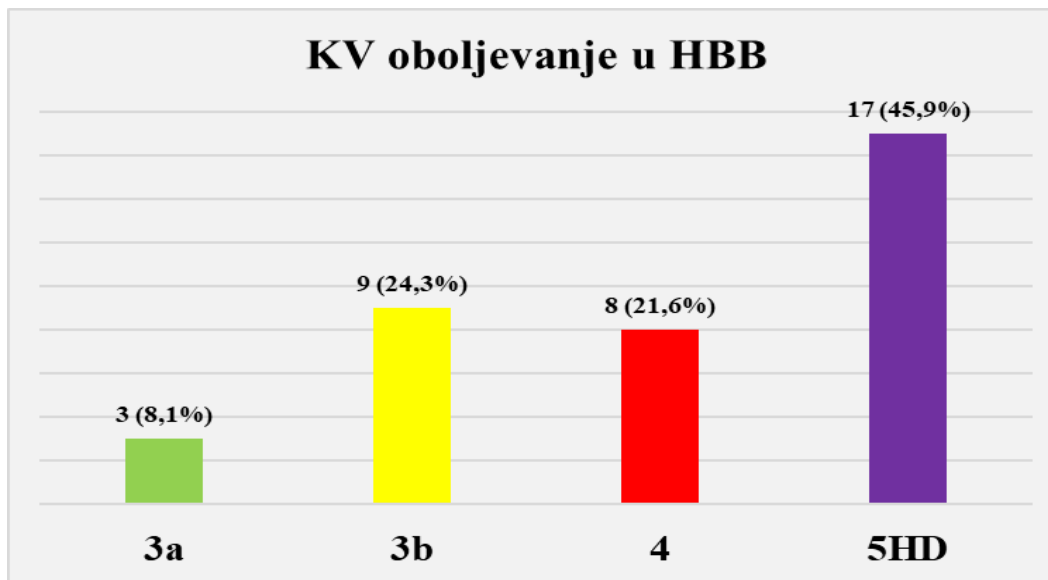
HBB = hronična bolest bubrega. EHO = ehosonografski. \* statistički značajna razlika u poređenju sa CKD 5HD grupom ( $p < 0,05$ ). # statistički značajna razlika u poređenju sa CKD 4 grupom ( $p < 0,05$ ). + ehokardiografski pregled na 12 meseci od početka praćenja nije bilo moguće uraditi kod svih ispitanika i njihov ukupan broj je smanjen zbog nastanka smrtnog ishoda ili napuštanja studije

Posle 12 meseci praćenja, bolesnici HBB 3b grupe imali su manju MLK u odnosu na predijalizne i dijalizne bolesnike (MLK: HBB 3b vs. 4,  $p=0,007$ , HBB 3b vs. 5HD,  $p<0,001$ ) dok je IMLK bio manji kod bolesnika 3a grupe i 3b grupe u odnosu na hemodijalizne bolesnike (HBB 3a vs. HBB 5HD,  $p=0,011$ ; HBB 3b vs. HBB 5HD,  $p=0,001$ ). Takođe, IVS bio je manji kod bolesnika 3a grupe i 3b grupe u odnosu na hemodijalizne bolesnike (HBB 3a vs. HBB 5HD,  $p=0,009$ ; HBB 3b vs. HBB 5HD,  $p=0,007$ ).

## 4.1.2. Analiza bolesnika sa i bez kardiovaskularnih događaja

### 4.1.2.1. Osnovne karakteristike bolesnika i terapija

Tokom 18 meseci praćenje KV događaj je registrovan kod ukupno 42,5% bolesnika (Grafikon 1). Najveći broj novonastalih KV događaja u periodu praćenja od 18 meseci registrovan je u HBB 5HD grupi bolesnika, manji i gotovo podjednak u HBB 4 i 3b grupi, dok je najmanji broj KV događaja registrovan u HBB 3a grupi bolesnika ( $p=0,001$ ).

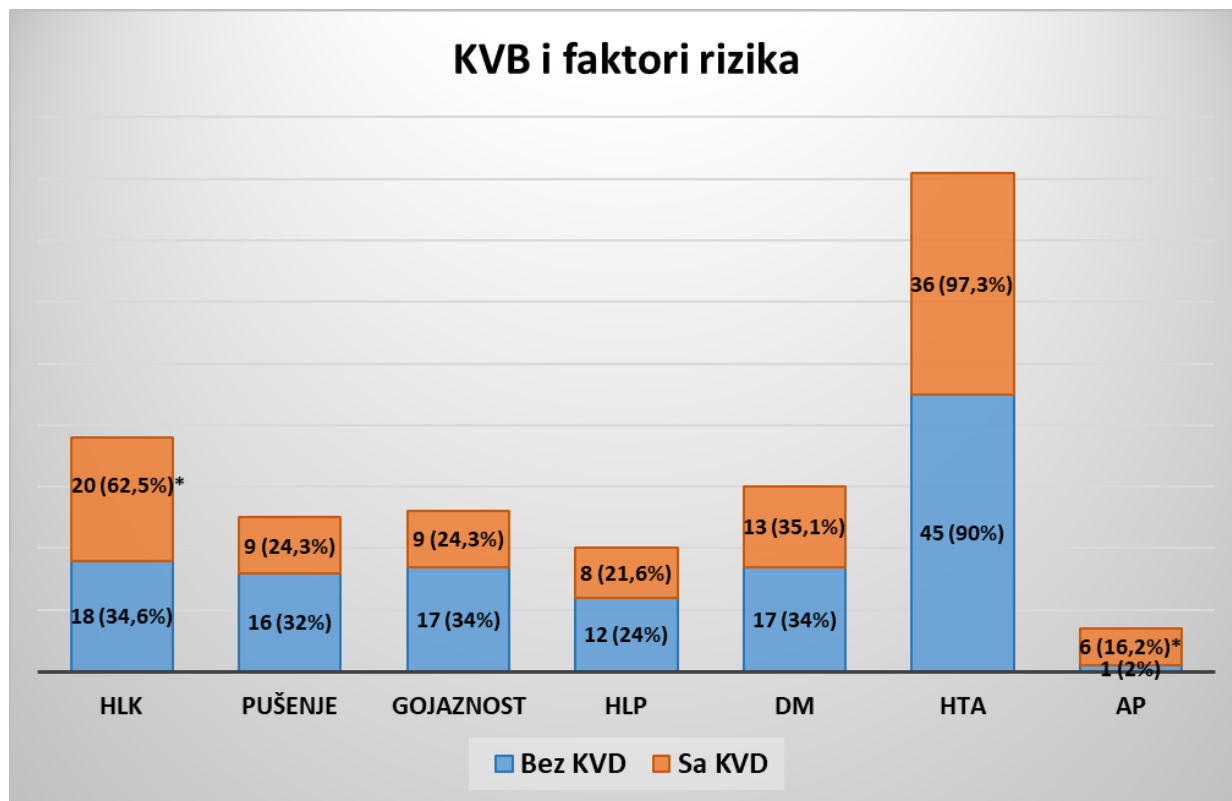


**Grafikon 1.** Distribucija kardiovaskularnih događaja po stadijumima hronične bolesti bubrega

Ispitivanjem faktora rizika KB obolevanja, pokazalo se da je statistički značajna razlika uočena jedino za stabilnu anginu pektoris ( $p=0,016$ ) i HLK ( $p=0,013$ ), tako da su bolesnici sa KV događajima imali veći procenat navedenih komorbiditeta u odnosu na bolesnike bez registrovanog KV događaja (Grafikon 2).

Između bolesnika sa i bez KV događaja nije uočena statistički značajna razlika u tradicionalnim promenljivim (arterijska hipertenzija, dijabetes melitus, hiperlipidemija, gojaznost i pušenje) i nepromenljivim (starost i pol) faktorima rizika.

Po pitanju terapije, bolesnici sa KV događajima koristili su češće kalcijumske antagoniste ( $p=0,001$ ) i agense stimulacije eritropoeze ( $p=0,015$ ) u odnosu na bolesnike bez KV događaja (Tabela 7).



KVB=kardiovaskularne bolesti, KVD=kardiovaskularni događaji, AP=angina pektoris, HTA=hipertenzija, DM=dijabetes mellitus, HLP=hiperlipoproteinemija, HLK=hipertrofija leve komore, \* statistički značajna razlika između grupa bolesnika sa i bez kardiovaskularnog događaja ( $p < 0,05$ ).

**Grafikon 2.** Zastupljenost faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih događaja

**Tabela 7.** Kliničke karakteristike i primenjena terapija kod bolesnika sa i bez kardiovaskularnih događaja

	<b>Sa KV događajima N=37</b>	<b>Bez KV događaja N=50</b>	<b>p</b>
<b>Starost (godine)</b>	68,2±10,8	61,9±16,4	0,150
<b>Pol (muško/žensko)</b>	24/13	36/14	0,551
<b>Stadijumi HBB, n (%):</b>			
- 3a	3 (8,1)	16 (27,6)	<b>0,001*</b>
- 3b	9 (24,3)	14 (24,1)	
- 4	8 (21,6)	13 (22,4)	
- 5HD	17 (45,9)	7 (12,1)	
<b>Komorbidity i faktori rizika, n (%):</b>			
-Stabilna angina pektoris	6 (16,2)	1 (2)	<b>0,016*</b>
-Arterijska hipertenzija	36 (97,3)	45 (90)	0,184
-Dijabetes melitus	13 (35,1)	17 (34)	0,912
-Hiperlipidemija	8 (21,6)	12 (24)	0,794
-Gojaznost	9 (24,3)	17 (34)	0,330
-Pušenje	9 (24,3)	16 (32)	0,434
-Hipertrofija leve komore	20 (62,5)	18 (34,6)	<b>0,013*</b>
<b>Terapija, n (%):</b>			
-ACE inhibitori	26 (70,3)	36 (72)	0,806
-Sartani	10 (27)	8 (16)	0,209
-Kalcijumski antagonisti	24 (64,9)	14 (28)	<b>0,001*</b>
-Beta blokatori	12 (32,4)	12 (24)	0,384
-Statini	4 (10,8)	7 (14)	0,658
-Antiagregansi	7 (18,9)	8 (16)	0,722
-Agensi stimulacije eritropoeze	19 (51,4)	13 (26)	<b>0,015*</b>

KV=kardiovaskularni, HBB=hronična bolest bubrega, ACE=angiotenzin konvertujući enzim, KV=kardiovaskularno, HBB=hronična bolest bubrega.

#### 4.1.2.2. Standardne laboratorijske analize

Bolesnici sa KV događajima imali su niže vrednosti hemoglobina ( $p=0,005$ ), albumina ( $p=0,011$ ) i više vrednosti troponina ( $p=0,018$ ), feritina ( $p=0,012$ ) i ureje ( $p=0,012$ ) u odnosu na bolesnike bez registrovanih KV događaja. Rezultati standardnih analiza između bolesnika sa i bez KV događaja prikazani su u Tabeli 8.

**Tabela 8.** Standardne laboratorijske analize na početku studije kod bolesnika sa i bez kardiovaskularnih događaja

	Sa KV događajima N=37	Bez KV događaja N=50	P
<b>Laboratorijski rezultati</b>			
Hemoglobin (g/dl)	11,2±1,7	12,4±1,8	<b>0,005*</b>
Kalcijum (mmol/l)	2,3±0,1	2,2±0,3	0,492
Fosfor (mmol/l)	1,2±0,4	1,1±0,3	0,232
iPTH (pg/ml)	171±198	92±84	0,105
Ukupni proteini (g/l)	72,8±7,2	72,8±4,5	0,964
Albumini (g/l)	38,9±4,5	41,4±3,1	<b>0,011*</b>
Holesterol (mmol/l)	4,6±1,1	4,7±1,0	0,689
Trigliceridi (mmol/l)	2,1±1,5	1,9±1,3	0,622
Mokraćna kiselina (mmol/l)	369±99	388±95	0,379
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	0,041±0,072	0,028±0,115	<b>0,018*</b>
Feritin (ng/ml)	207±129	147±134	<b>0,012*</b>
C-reaktivni protein (mg/l)	5,0±5,4	4,6±5,3	0,720
Urea (mmol/l)	19,1±8,8	14,3±7,8	<b>0,012*</b>
Kreatinin (mmol/l)	472±344	264±257	<b>0,002*</b>

KV=kardiovaskularni. PTH=paratireoidni hormon.

#### 4.1.2.3. Ehokardiografski parametri

U ispitivanju rizika KV događaja, analizirani su ehokardiografski parametri kako na početku studije tako i posle perioda praćenja od 12 meseci. Utvrđeno je da su bolesnici sa registrovanim KV događajima imali značajno više vrednosti MLK, IMLK, LP, ZZLK, IVS, E/e odnos i nižu vrednost E/A u odnosu na bolesnike bez KV događaja. Posle 12 meseci od početka praćenja bolesnici sa KV događajima imali su u odnosu na bolesnike bez KV događaja više vrednosti sledećih parametara: MLK, IMLK, E/e odnos, ZZLK i IVS. Navedene vrednosti su prikazane u Tabeli 9.

**Tabela 9.** Ehokardiografski parametri kod bolesnika sa i bez kardiovaskularnih događaja na početku studije i posle godinu dana praćenja

	Sa KV događajima N=37	Bez KV događaja N=50	p
<b>EHO parametri na početku studije</b>			
Masa leve komore (g/m)	204±57	177±54	<b>0,034*</b>
Indeks mase leve komore (g/m <sup>2</sup> )	110±31	94±24	<b>0,025*</b>
Leva pretkomora (mm)	41±6	39±6	<b>0,048*</b>
Ejekciona frakcija (%)	54±7	53±6	0,678
E/A odnos	0,8±0,3	1,2±1,5	<b>0,013*</b>
E/e odnos	11,7±3,2	9,3±2,7	<b>0,002*</b>
Zadnji zid leve komore (mm)	10,6±1,4	9,9±1,5	<b>0,039*</b>
Interventrikularni septum (mm)	11,1±1,3	10,1±1,4	<b>0,002*</b>
<b>EHO parametri posle godinu dana<sup>+</sup></b>			
Masa leve komore (g/m)	216±55	181±55	<b>0,010*</b>
Indeks mase leve komore (g/m <sup>2</sup> )	120±32	96±25	<b>0,001*</b>
Leva pretkomora (mm)	41±5	39±6	0,295
Ejekciona frakcija (%)	52±4	52±6	0,418
E/A odnos	0,9±0,2	1,1±1,2	0,437
E/e odnos	13,2±3,8	11,2±4,0	<b>0,039*</b>
Zadnji zid leve komore (mm)	10,5±1,4	9,7±1,2	<b>0,010*</b>
Interventrikularni septum (mm)	10,9±1,6	10,2±1,4	<b>0,049*</b>

HBB=hronična bolest bubrega. EHO=ehosonografski. + ehokardiografski pregled na 12 meseci od početka praćenja nije bilo moguće uraditi kod svih ispitanika i njihov ukupan broj je smanjen zbog nastanka smrtnog ishoda ili napuštanja studije

#### 4.1.3. Analiza bolesnika sa i bez hipertrofije leve komore

##### 4.1.3.1. Standardne laboratorijske analize

Bolesnici sa hipertrofijom leve komore su, prema literaturinim podacima, rizična grupa za loš kardiovaskularni ishod, a definisanje ove grupe bolesnika ima preventivni značaj. Prema prikazanim rezultatima, uočeno je da su bolesnici sa ehokardiosonografski verifikovanom HLK imali niže vrednosti hemoglobina (p=0,048) i više vrednosti fosfora (p=0,015) u odnosu na bolesnike bez HLK. Rezultati standardnih analiza između bolesnika sa i bez HLK prikazani su u Tabeli 10.

**Tabela 10.** Standardne laboratorijske analize na početku studije kod bolesnika sa i bez hipertrofije leve komore

	Sa HLK <sup>+</sup> N=38	Bez HLK <sup>+</sup> N=38	p
<b>Laboratorijski rezultati</b>			
Hemoglobin (g/dl)	11,5±1,7	12,4±2,0	<b>0,048*</b>
Kalcijum (mmol/l)	2,2±0,4	2,3±0,1	0,403
Fosfor (mmol/l)	1,3±0,4	1,08±0,3	<b>0,015*</b>
iPTH (pg/ml)	168±200	82±60	0,182
Ukupni proteini (g/l)	71,9±6,9	73,5±5,1	0,283
Albumini (g/l)	39,7±4,3	40,9±4,1	0,247
Holesterol (mmol/l)	4,8±1,3	4,4±0,9	0,168
Trigliceridi (mmol/l)	2,3±1,7	1,9±1,2	0,333
Mokraćna kiselina (mmol/l)	373±86	388±94	0,470
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	0,032±0,068	0,035±0,130	0,927
Feritin (ng/ml)	195±150	136±101	0,062
C-reaktivni protein (mg/l)	4,7±6,2	5,1±5,0	0,777
Urea (mmol/l)	17,7±8,2	14,5±8,2	0,060

HLK=hipertrofija leve komore. PTH=paratireoidni hormon. + Kod 11 bolesnika nije bilo moguće ehokardiosonografski odrediti indeks mase leve komore, a samim tim ni da li postoji hipertrofija leve komore.

#### 4.1.4. Analiza bolesnika sa napredovanjem i bez napredovanja hronične bolesti bubrega

Praćeno je i napredovanje HBB u ispitivanoj populaciji, pri čemu je dalje smanjivanje JGF registrovano kod 14 bolesnika, a od navedenog broja svega četvero je imalo dijabetesnu nefropatiju kao osnovnu bolest. Od ukupnog broja registrovanih kod 13 je primećen prelazak bolesnika u viši stadijum bubrežne slabosti pri čemu su tri bolesnika započela hronični program lečenja dijalizom.

##### 4.1.4.1. Standardne laboratorijske analize

Bolesnici sa zabeleženim napredovanjem HBB imali su značajno niže vrednosti kalcijuma ( $p=0,001$ ) i albumina ( $p=0,001$ ) kao i više vrednosti iPTH ( $p=0,044$ ) u odnosu na bolesnike bez napredovanja HBB. Rezultati standardnih analiza između bolesnika sa i bez napredovanja HBB prikazani su u Tabeli 11.

##### 4.1.4.2. Ehokardiografski parametri

Kod dve grupe bolesnika, sa i bez napredovanja HBB, od svih ispitivanih EHO parametara jedino je uočena statistički značajna razlika za MLK 12 meseci od početka praćenja tako da su bolesnici sa napredovanjem HBB imali više vrednosti MLK u odnosu na bolesnike bez napredovanja ( $208±53$  vs.  $172±55$ ;  $p=0,024$ ), (Tabela 12).



**Tabela 11.** Standardne laboratorijske analize na početku studije kod bolesnika sa i bez napredovanja hronične slabosti bubrega

	Sa napredovanjem HBB <sup>+</sup> , N=14	Bez napredovanja HBB <sup>+</sup> , N=36	p
<b>Laboratorijski rezultati</b>			
Hemoglobin (g/dl)	12,1±1,6	13,1±1,6	0,067
Kalcijum (mmol/l)	2,0±0,6	2,3±0,1	<b>0,001*</b>
Fosfor (mmol/l)	1,1±0,2	0,9±0,2	0,121
iPTH (pg/ml)	133±110	61±27	<b>0,044*</b>
Ukupni proteini (g/l)	72±8	74±4	0,157
Albumini (g/l)	38±4	42±2	<b>0,001*</b>
Holesterol (mmol/l)	5,3±1,3	4,7±1,0	0,111
Trigliceridi (mmol/l)	2,7±2,0	1,9±1,4	0,166
Mokraćna kiselina (mmol/l)	405±78	386±96	0,538
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	0,007±0,004	0,02±0,122	0,629
Feritin (ng/ml)	211±174	138±112	0,102
C-reaktivni protein (mg/l)	3,3±3,2	3,9±4,6	0,709

HBB=hronična bolest bubrega, iPTH=intaktni paratireoidni hormone, + U navedeni broj ispitanika ne svrstavamo bolesnike koji se nalaze u završnom stadijumu HBB, ali i 13 bolesnika gde nije bilo moguće zabeležiti napredovanje HBB iz nekog razloga (smrt, napuštanje studije...).

**Tabela 12.** Ehokardiografski parametri kod bolesnika sa i bez napredovanja hronične slabosti bubrega na početku i posle godinu dana praćenja

	Sa napredovanjem HBB <sup>+</sup> , N=14	Bez napredovanja HBB <sup>+</sup> , N=36	p
<b>EHO parametri na početku studije</b>			
Masa leve komore (g/m)	204±63	179±61	0,242
Indeks mase leve komore (g/m <sup>2</sup> )	103±27	94±27	0,349
Leva pretkomora (mm)	40±6	40±5	0,918
Ejekciona frakcija (%)	51±5	52±6	0,433
E/A odnos	1,4±1,7	0,9±0,4	0,194
E/e odnos	8,9±2,9	9,8±2,7	0,243
Zadnji zid leve komore (mm)	9,9±1,3	9,8±1,5	0,855
Interventrikularni septum (mm)	10,5±1,4	10,1±1,5	0,430
<b>EHO parametri posle godinu dana<sup>+</sup></b>			
Masa leve komore (g/m)	208±53	172±55	<b>0,024*</b>
Indeks mase leve komore (g/m <sup>2</sup> )	105±23	93±25	0,115
Leva pretkomora (mm)	41±6	39±6	0,534
Ejekciona frakcija (%)	51±7	51±6	0,852
E/A odnos	1,0±0,3	0,9±0,3	0,415
E/e odnos	11,4±4,8	11,9±4,0	0,489
Zadnji zid leve komore (mm)	10,0±1,4	9,7±1,3	0,678
Interventrikularni septum (mm)	10,3±1,8	10,1±1,5	0,749

HBB=hronična bolest bubrega, EHO=ehosonografski, + ehokardiografski pregled na 12 meseci od početka praćenja nije bilo moguće uraditi kod svih ispitanika i njihov ukupan broj je smanjen zbog nastanka smrtnog ishoda ili napuštanja studije

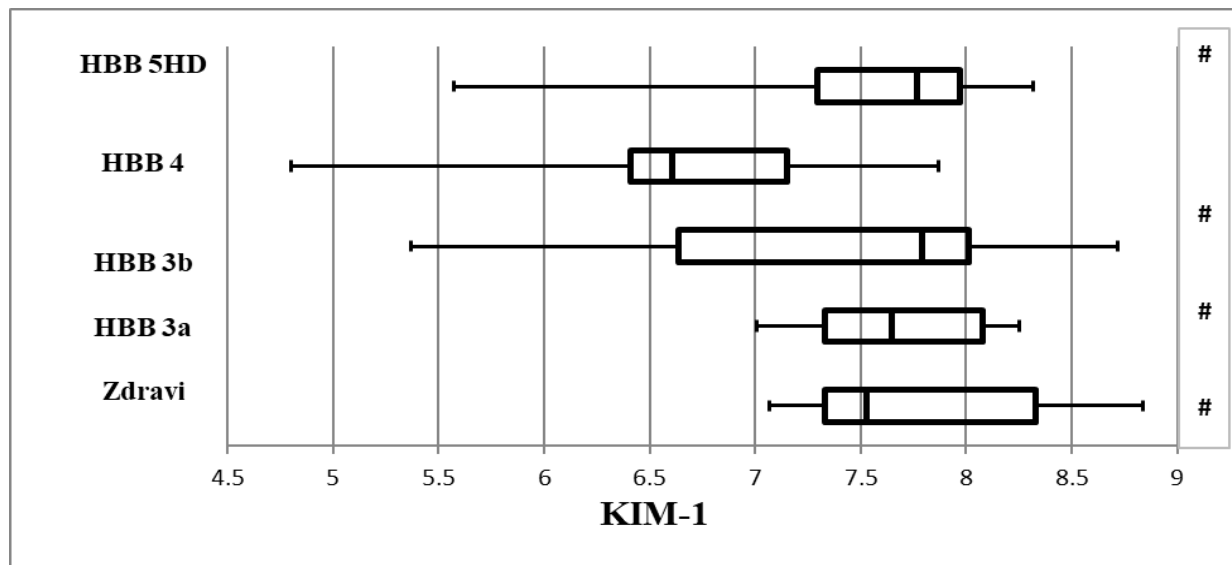
Bolesnici sa DM imali su značajno više vrednosti E/e odnosa ( $11,6 \pm 3,5$  vs.  $9,6 \pm 2,7$ ;  $p=0,030$ ) i ZZLK ( $10,6 \pm 1,4$  vs.  $10,0 \pm 1,5$ ;  $p=0,047$ ) na početku studije i višu vrednost LP ( $42 \pm 6,3$  vs.  $38 \pm 5,9$ ;  $p=0,020$ ) posle 12 meseci u odnosu na bolesnike bez DM.

#### 4.2. Analiza biomarkera u različitim stadijumima hronične bolesti bubrega

Tokom napredovanja HBB, analizirani su sledeći biomarkeri: KIM-1, NGAL, SOD, IL-18, IMA i mikroRNK-133a.

##### 4.2.1. *Kidney injury molecule-1*

Iako je potvrđen kao rani marker AOB, postoje podaci koji ukazuju na značaju KIM-1 u napredovanju HBB i nastanku KVB. Prema prikazanim rezultatima, nije uočena pravilnost u promeni vrednosti KIM-1 tokom evolucije HBB osim što su vrednosti u stadijumu 4 bile značajno niže u odnosu na ostale stadijume ( $p < 0,001$ ). Vrednosti KIM-1 u HBB 4 grupi bolesnika bile su statistički značajno niže u odnosu na dobijene vrednosti zdravih kontrola, HBB 3a, HBB 3b i HBB 5HD grupe (HBB 4 vs. zdravi;  $p=0,001$ ; HBB 4 vs. HBB 3a;  $p < 0,001$ ; HBB 4 vs. HBB 3b;  $p=0,003$ ; HBB 4 vs. HBB 5HD;  $p < 0,001$ ), Grafikon 3.

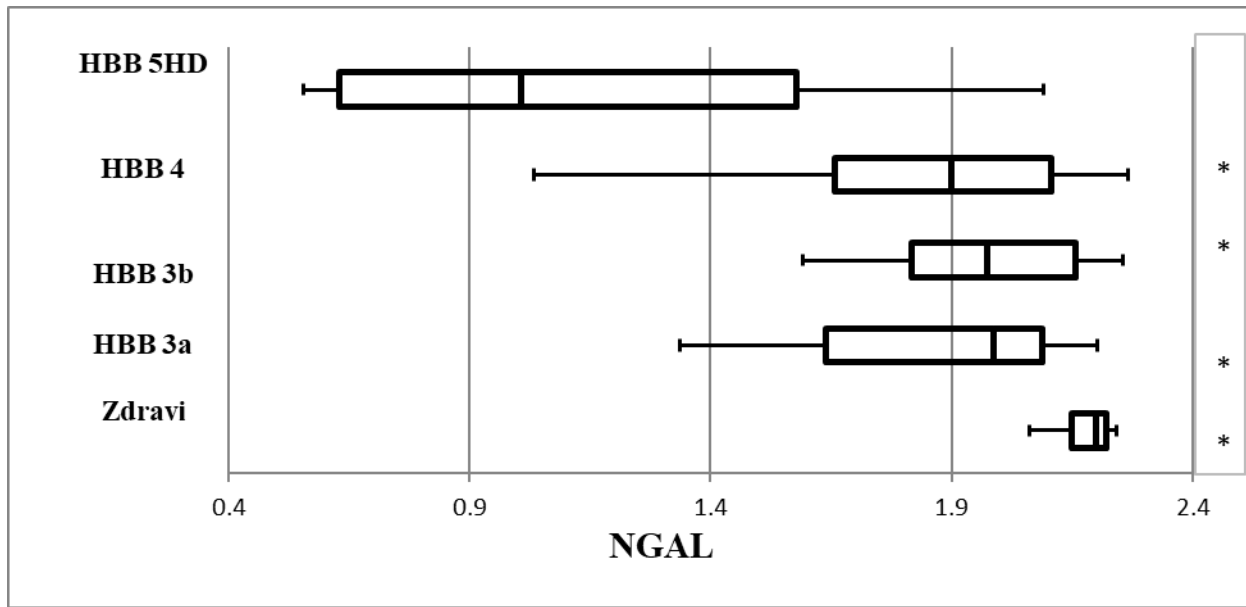


KIM-1=*kidney injury molecule*, HBB=hronična bolest bubrega, # statistički značajna razlika u odnosu na HBB 4 grupu.

**Grafikon 3.** Vrednosti serumskog *kidney injury molecule-1* (ng/mL) između grupa ispitanika (minimum, medijana, maksimum i interkvartilni opseg).

#### 4.2.2. Neutrophil gelatinase associated lipocalin

Analizom po stadijumima HBB, uočena je statistički značajna razlika u dobijenim vrednostima urinarnog NGAL-a po ispitivanim grupama ( $p < 0,001$ ). Najniže vrednosti ispitivanog biomarkera zabeležene su u grupi HBB 5HD bolesnika što je statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu zdravih, HBB 3a, 3b i 4 grupu ( $p < 0,001$  za sve poređene grupe), Grafikon 4.

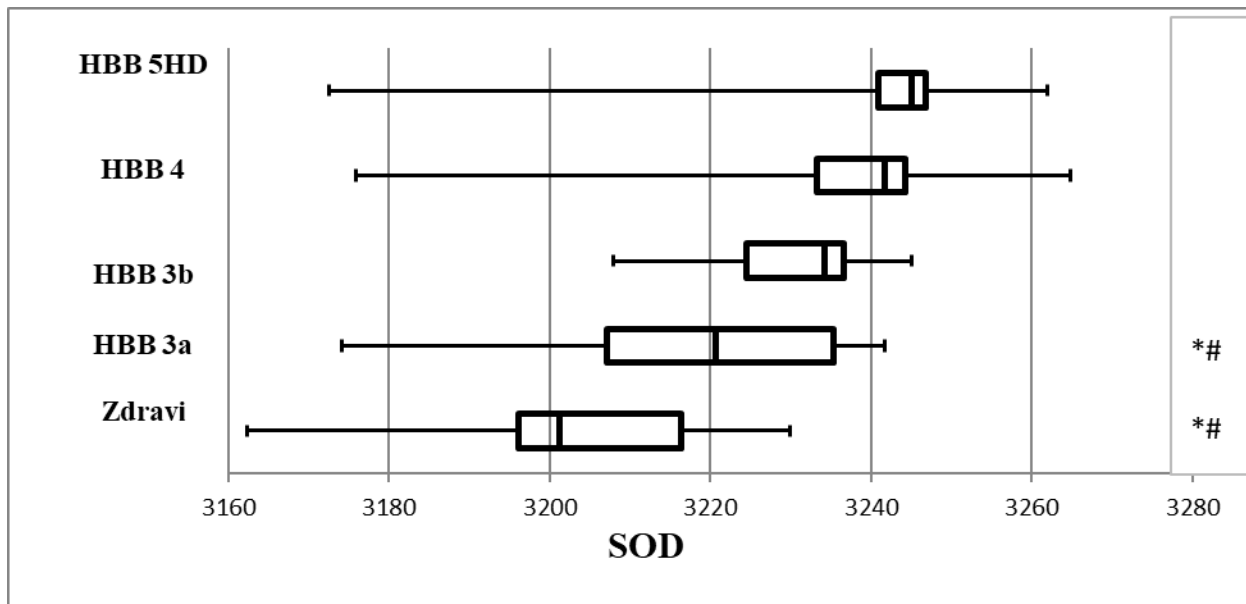


NGAL=*neutrophil gelatinase associated lipocalin*, HBB=*hronična bolest bubrega*, \* statistički značajna razlika u odnosu na HBB 5HD grupu.

**Grafikon 4.** Vrednosti urinarnog *neutrophil gelatinase associated lipocalin* (ng/mL) između grupa ispitanika (minimum, medijana, maksimum i interkvartilni opseg).

### 4.2.3. Superoksid dismutaza

Oksidativni stres je opisan kao prateća pojava tokom napredovanja HBB. Analizom podataka uočena je značajna razlika u dobijenim vrednostima serumskog SOD po ispitivanim grupama ( $p < 0,001$ ). Sa napredovanjem HBB uočava se porast vrednosti SOD tako da su bolesnici u HBB 5HD i 4 grupi imali značajno više vrednosti navedenog enzima u odnosu na bolesnike HBB 3a grupe i kontrolnu grupu zdravih (HBB 5HD vs. HBB 3a;  $p = 0,005$ ; HBB 5HD vs. zdravi;  $p = 0,001$ ; HBB 4 vs. HBB 3a;  $p = 0,022$ ; HBB 4 vs. zdravi;  $p = 0,003$ ). Grafikon 5.



HBB=hronična bolest bubrega, \* statistički značajna razlika u odnosu na HBB 5HD grupu, # statistički značajna razlika u odnosu na HBB 4 grupu, SOD= superoksid dizmutaza.

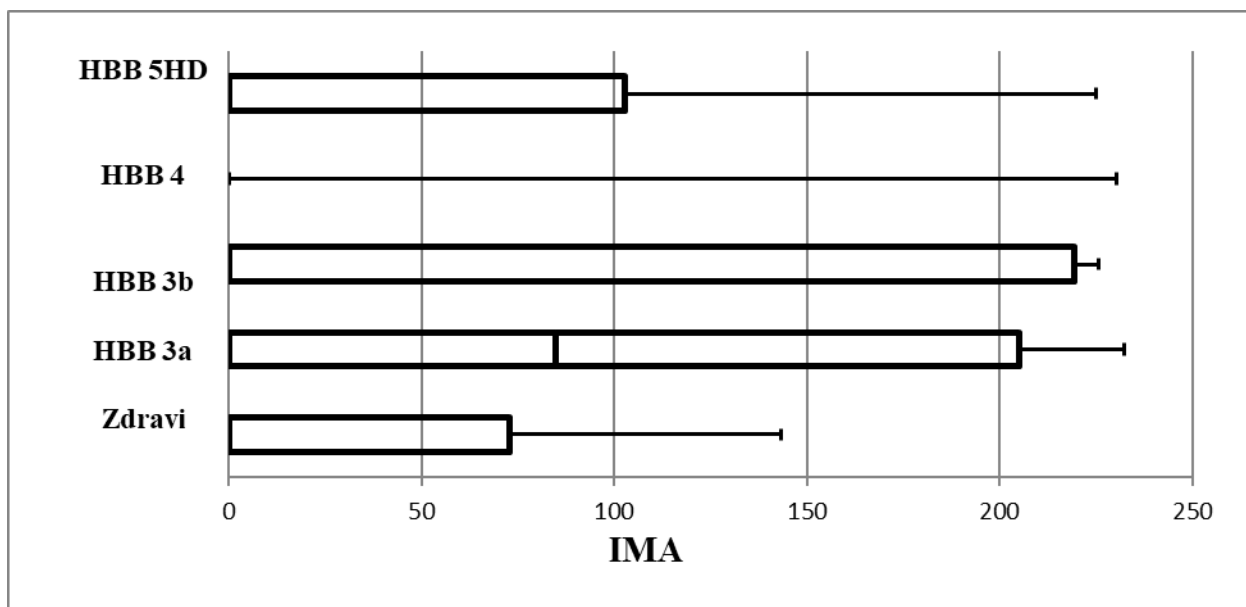
**Grafikon 5.** Vrednosti serumske superoksid dizmutaze (ng/mL) između grupa ispitanika (minimum, medijana, maksimum i interkvartilni raspon).

### 4.2.4. Ischemia Modified Albumin

IMA je indirektni marker oksidativnog stresa i kao takav je pokazatelj potencijalno nepovoljnog ishoda bolesnika usled KV digadaja. Na Grafikonu 6. su prikazane vrednosti IMA po stadijumima HBB kao i u kontrolnoj grupi. Iz navedenih podataka se vidi da prikazane vrednosti ne pokazuju pravilnost u odnosu na stadijume HBB i da vrednosti u pojedinim stadijumima ne pokazuju statistički značajnu razliku ( $p = 0,346$ ).

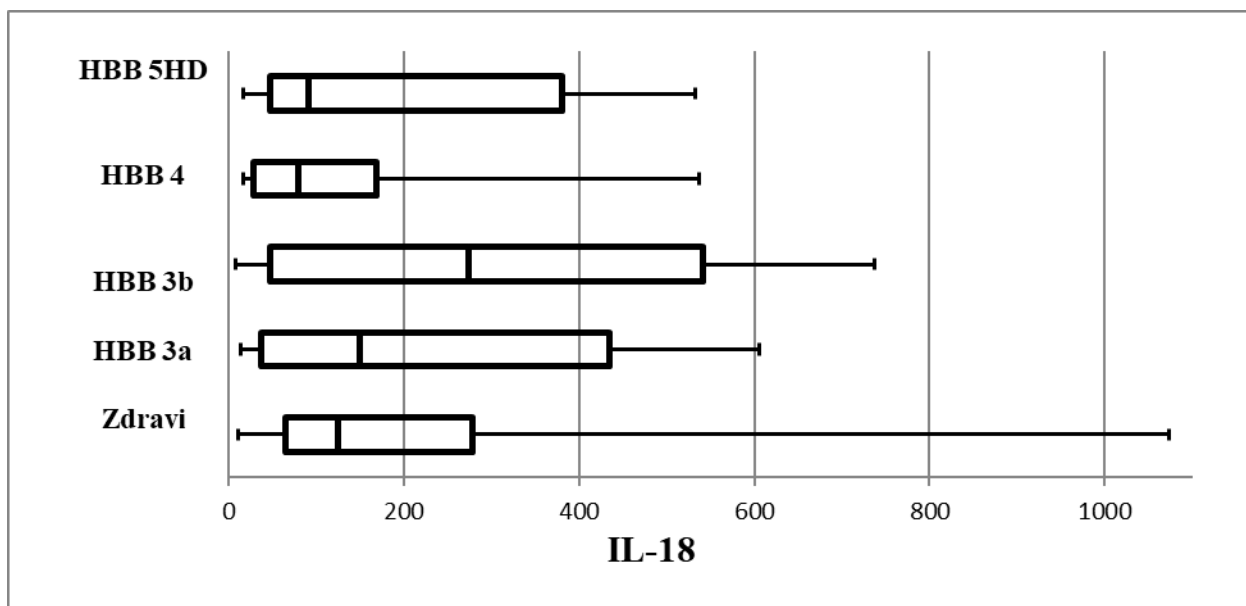
### 4.2.5. Interleukin-18

Inflamacija je sastavni deo patogeneze napredovanja bubrežnih bolesti, ali i nastanka i napredovanja KVB. Prikazanom analizom nije uočena značajna razlika između grupa ispitanika za dobijene serumske vrednosti IL-18 ( $p = 0,700$ ), Grafikon 7.



IMA= *Ischemia Modified Albumin*, HBB=hronična bolest bubrega

**Grafikon 6.** Vrednosti *ischemia modified albumin* (ng/mL) po grupama ispitanika (minimum, medijana, maksimum i interkvartilni opseg).

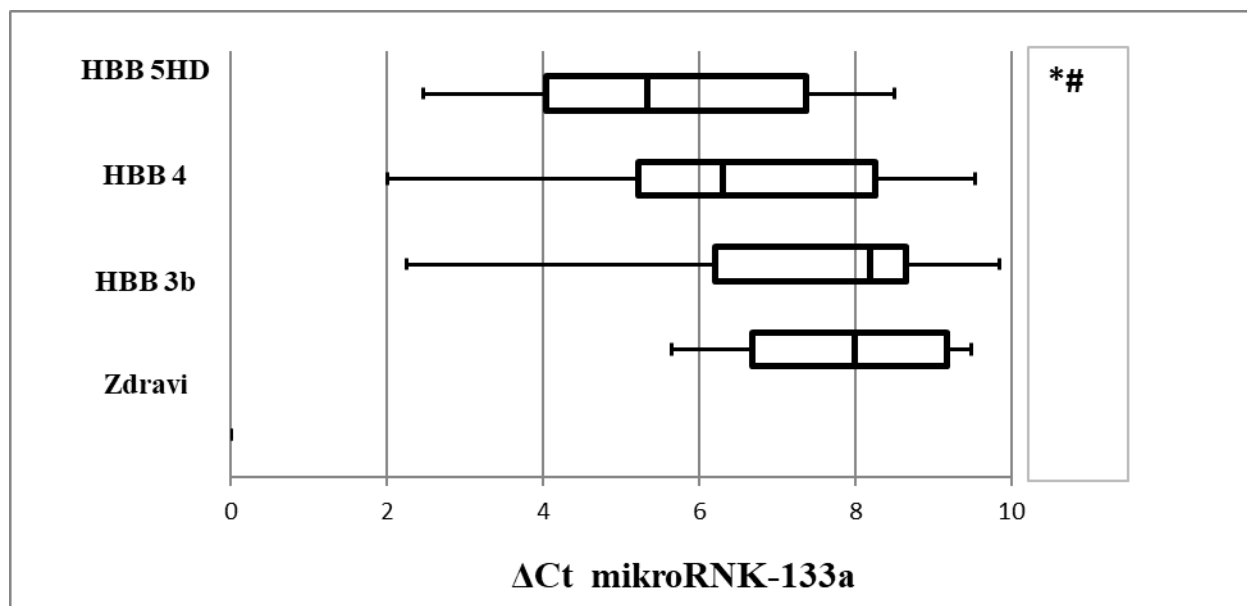


IL-18=*interleukin 18*, HBB=hronična bolest bubrega

**Grafikon 7.** Vrednosti serumskog interleukina 18 (pg/mL) po grupama ispitanika (minimum, medijana, maksimum i interkvartilni opseg).

#### 4.2.6. Mikroribonukleinska kiselina 133-a

Uočena je statistički značajna razlika u nivou mikroRNK -133a između bolesnika sa HBB 5HD i kontrolne grupe zdravih ( $\Delta Ct$   $5,6 \pm 1,9$  vs  $7,8 \pm 1,5$ ,  $p = 0,016$ ) i između HBB 5HD i HBB 3b grupe ( $\Delta Ct$   $5,6 \pm 1,9$  vs  $7,2 \pm 2,2$ ,  $p = 0,022$ ), Grafikon 8. Ranije je napomenuto da postoji inverzna korelacija između  $\Delta Ct$  i mikroRNK -133a, što znači da je nivo mikroRNA-133 u serumu bio značajno viši u HBB 5HD nego u bolesnika HBB 3a gupe i zdravih kontrola. Povećana vrednost je zapažena i u bolesnika stadijuma 4, ali ta vrednosti nije dostigla statističku značajnost.



HBB=hronična bolest bubrega. \* statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom zdravih. # statistički značajna razlika u poređenju sa HBB 3b grupom. & statistički značajna razlika u poređenju sa HBB 4 grupom.  $\Delta Ct$  predstavlja razliku između nivoa ciljanog mikroRNK-133a i endogene kontrole mikroRNK -16. Postoji inverzna korelacija između vrednosti  $\Delta Ct$  i nivoa mikroRNK-133a u serumu (ako je  $\Delta Ct$  smanjen, nivo mikroRNK -133a u serumu je povećan i obrnuto).

**Grafikon 8.** Nivo serumske mikroribonukleinske kiseline 133a po grupama ispitanika (minimum, medijana, maksimum i interkvartilni opseg).

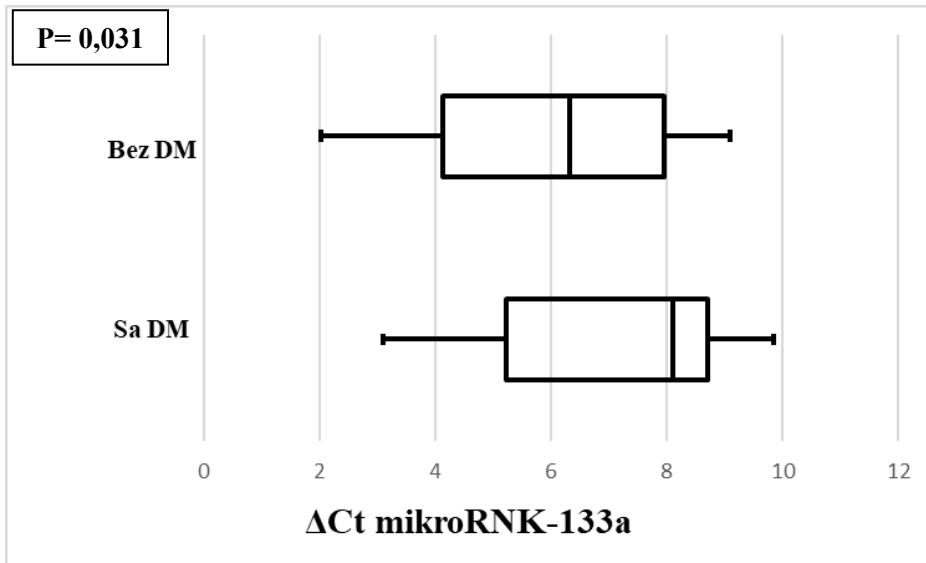
#### 4.3. Povezanost biomarkera sa tradicionalnim faktorima rizika

Povezanost pojedinih biomarkera ispitivana je sa tradicionalnim faktorima rizika (pol, arterijska hipertenzija, dijabetes melitus, hiperlipidemiju, gojaznost, pušenje) i ovde su prikazane samo statistički značajne vrednosti.

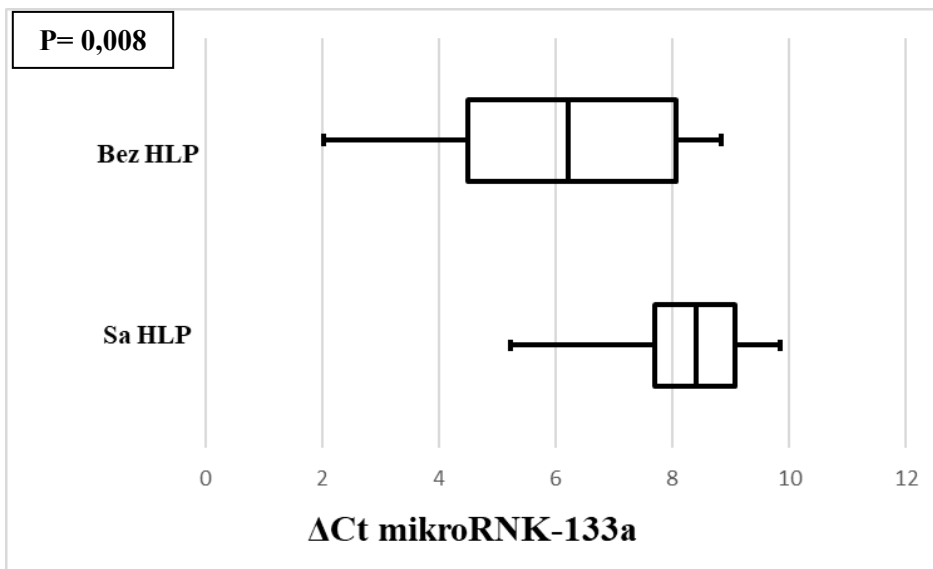
### 4.3.1. Mikroribonukleinska kiselina 133-a

Po pitanju faktora rizika, nivo serumskog mikroRNK-133a ne razlikuje se između bolesnika sa ili bez HTA, sa ili bez gojaznosti, pušača odnosno nepušača, a isto tako se ne razlikuje u odnosu na pol. Uočena je statistički značajna razlika po pitanju DM i HLP, pa tako bolesnici sa navedenim dijagnozama imaju manji nivo serumskog mikroRNK-133a u odnosu na bolesnike bez pomenutih bolesti (DM,  $p=0,031$ ; HLP,  $p=0,008$ ) (Grafikon 9).

A



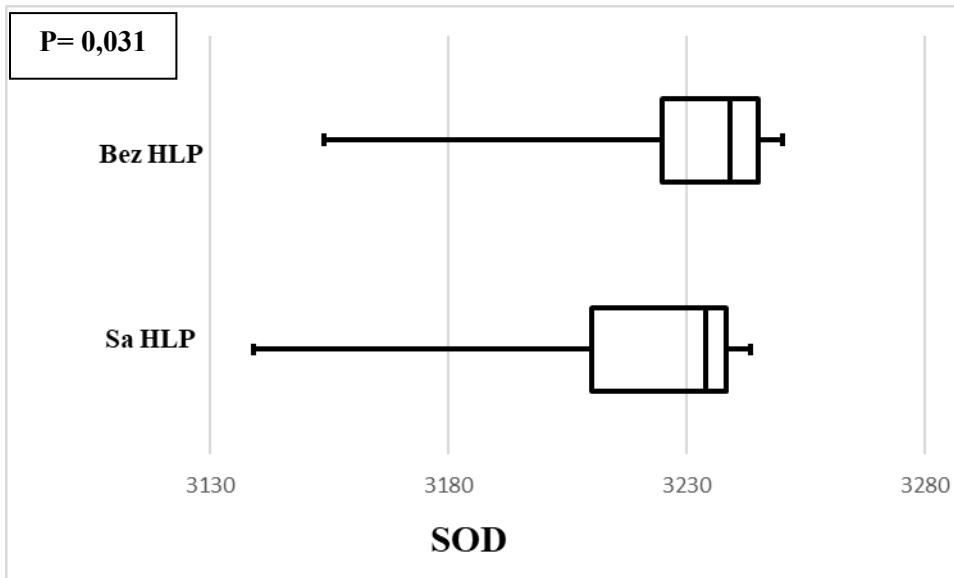
B



**Grafikon 9.** Nivo serumske mikroribonukleinske kiseline 133a kod bolesnika sa i bez dijabetes melitusa (DM) (A) i bolesnika sa i bez hiperlipoproteinemije (HLP) (B) (minimum, medijana, maksimum, interkvartilni opseg).

### 4.3.2. Superoksid dismutaza

Bolesnici sa HLP imali su niže izmerene vrednosti serumskog SOD u odnosu na bolesnike bez HLP ( $p=0,031$ ) (Grafikon 10). Nije uočena razlika u vrednostima markera oksidativnog stresa kod drugih tradicionalnih faktora rizika.



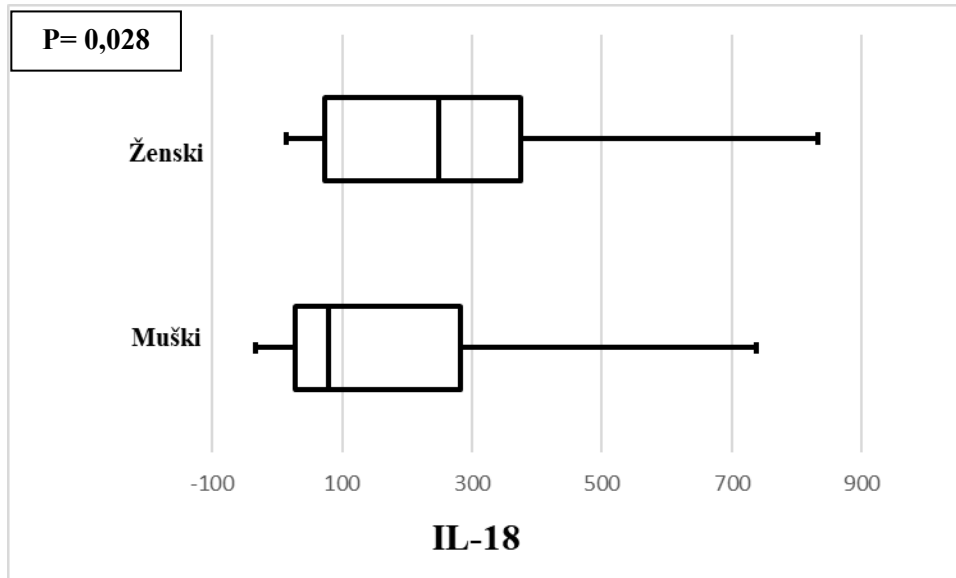
**Grafikon 10.** Vrednost superoksid dizmutaze (SOD) kod bolesnika sa i bez hiperlipoproteinemije (HLP) (minimum, medijana, maksimum, interkvartilni raspon).

### 4.3.3. Interleukin-18 i Ischemia modified albumin

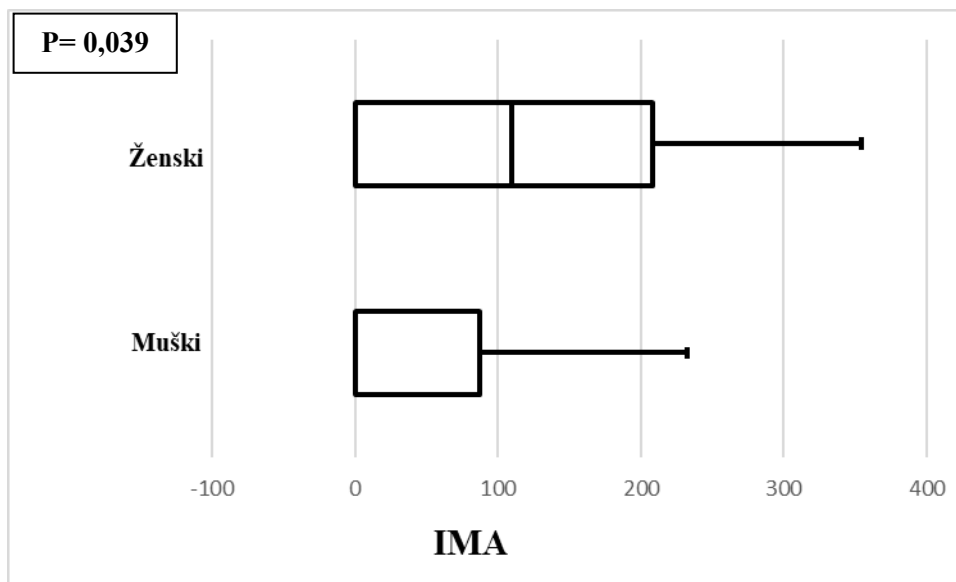
Vrednosti ova dva biomarkera su zavisila od pola ispitanika. Tako su muškarci imali niže vrednosti IL-18 ( $p=0,028$ ) i niže vrednosti IMA u odnosu na žene ( $p=0,039$ ) (Grafikon 11). Nije uočena razlika u vrednostima IL-18 i IMA kod drugih ispitivanih tradicionalnih faktora rizika.



A



B



**Grafikon 11.** Vrednost interleukina 18 (IL-18) (A) i *ischemia modifide albumin* (IMA) (B) zavisno od pola ispitanika (minimum, medijana, maksimum, interkvartilni opseg).

#### 4.3.4. Markeri akutnog oštećenja bubrega

Nije uočena razlika u vrednostima markera akutnog oštećenja bubrega i ispitivanih faktora rizika.

#### 4.4. Povezanost biomarkera sa hroničnom terapijom

Bolesnici koji su u svojoj redovnoj terapiji koristili neki od beta blokatora imali su značajno višu vrednost SOD ( $p=0,017$ ) odnosno nižu vrednost IL-18 ( $p=0,047$ ) u odnosu na bolesnike koji nisu koristili pomenutu terapiju. Takođe, bolesnici koji su bili na terapiji agensima stimulacije eritropoeze imali su značajno više vrednosti SOD ( $p<0,001$ ) odnosno niže vrednosti NGAL ( $p=0,002$ ) u odnosu na bolesnike koji nisu koristili pomenutu terapiju. Nije uočena značajna razlika u dobijenim vrednosima ostalih ispitivanih markera po pitanju primene sartana, ACE inhibitora, kalcijumskih agonista, antiagreganasa i statina. Uticaj primenjene hronične terapije na vrednost biomarkera može se videti u Tabeli 13.

**Tabela 13.** Vrednosti ispitivanih biomarkera u zavisnosti od primene beta blokatora i agenasa stimulacije eritropoeze

	Beta blokatori Da	Beta blokatori Ne	p
SOD (ng/mL)	3236±20	3225±23	<b>0,017*</b>
IMA (ng/mL)	47±83	81±102	0,119
IL-18 (pg/mL)	121±145	244±220	<b>0,047*</b>
KIM-1 (ng/ml)	7,2±0,9	7,1±1,2	0,749
NGAL (ng/ml)	1,7±0,5	1,6±0,4	0,554
$\Delta$ Ct mikroRNK-133a	6,2±2,3	6,4±2,1	0,770
	Agensi stimulacije eritropoeze, Da	Agensi stimulacije eritropoeze, Ne	p
SOD (ng/mL)	3241±16	3223±23	<b>&lt;0,001*</b>
IMA (ng/mL)	55±87	78±102	0,479
IL-18 (pg/mL)	167±204	224±206	0,519
KIM-1 (ng/ml)	7,2±0,8	7,1±1,2	0,773
NGAL (ng/ml)	1,3±0,6	1,8±0,2	<b>0,002*</b>
$\Delta$ Ct mikroRNK-133a	5,9±2,0	6,8±2,3	0,125

SOD=superoksid dizmutaza. IMA=*ischemia modifide albumine*. IL-18=interleukin-18. KIM-1=*kidney injury molecule-1*. NGAL=*neutrophil gelatinase associated lipocalin*.

#### 4.5. Korelacija biomarkera i standardnih laboratorijskih analiza

Uočena je značajna negativna korelacija između KIM-1 sa SOD i urejom. Statistički značajna pozitivna korelacija postoji između IL-18, IMA i CRP. IMA negativno korelira sa dobijenom vrednosti troponina, ali i pozitivno sa trigliceridima i mokraćnom kiselinom. NGAL pozitivno korelira sa JGF, ukupnim proteinima i hemoglobinom, ali i negativno sa vrednostima kreatinina, ureje, troponina i fosfora. I na kraju, najveći broj korelacija viđen je po pitanju markera oksidativnog stresa SOD koji pozitivno korelira sa kreatininom, urejom, feritinom, saturacijom gvožđa i fosforom, ali i negativno sa hemoglobinom, kalcijumom, albuminom, JGF i KIM-1 (Tabela 14).

**Tabela 14.** Statistički značajne korelacije pojedinih biomarkera i standardnih laboratorijskih analiza

<b>SOD</b>	<b>Spirmanov koeficijent korelacije, r</b>	<b>p</b>
KIM-1 (ng/ml)	-0,266	<b>0,026</b>
Kreatinin (mmol/L)	+0,557	<b>&lt;0,001</b>
Urea (mmol/L)	+0,491	<b>&lt;0,001</b>
JGF (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	-0,578	<b>&lt;0,001</b>
Albumin (g/L)	-0,397	<b>0,001</b>
Feritin (ng/ml)	+0,320	<b>0,008</b>
Saturacija	+0,360	<b>0,003</b>
Kalcijum (mmol/L)	-0,258	<b>0,031</b>
Fosfor (mmol/L)	+0,356	<b>0,002</b>
Hemoglobin (g/dL)	-0,344	<b>0,004</b>
<b>NGAL</b>		
Kreatinin (mmol/L)	-0,418	<b>&lt;0,001</b>
Urea (mmol/L)	-0,332	<b>0,005</b>
JGF (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	+0,423	<b>&lt;0,001</b>
Hemoglobin (g/dL)	+0,277	<b>0,020</b>
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	-0,299	<b>0,028</b>
Fosfor (mmol/L)	-0,384	<b>0,001</b>
Ukupni proteini (g/L)	+0,408	<b>0,001</b>
<b>IMA</b>		
IL-18 (pg/mL)	+0,678	<b>&lt;0,001</b>
Trigliceridi (mmol/L)	+0,338	<b>0,004</b>
Mokraćna kiselina (mmol/L)	+0,242	<b>0,042</b>
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	-0,287	<b>0,035</b>
<b>IL-18</b>		
IMA (ng/mL)	+0,678	<b>&lt;0,001</b>
C-reaktivni protein (mg/l)	+0,256	<b>0,032</b>
<b>KIM-1</b>		
SOD (ng/mL)	-0,266	<b>0,026</b>
Urea (mmol/L)	-0,240	<b>0,041</b>

SOD=superoksid dizmutaza. IMA=*ischemia modifide albumine*. IL-18=interleukin-18. KIM-1=*kidney injury molecule-1*. NGAL=*neutrophil gelatinase associated lipocalin*. JGF=jačina glomerulske filtracije.

Uočena je negativna korelacija mikroRNK-133a sa hemoglobinom, kalcijumom i ukupnim proteinima, kao i pozitivna sa urejom. Korelacija je prikazana u tabeli broj 15.

**Tabela 15.** Korelacija mirkoRNK-133a i standardnih laboratorijskih analiza

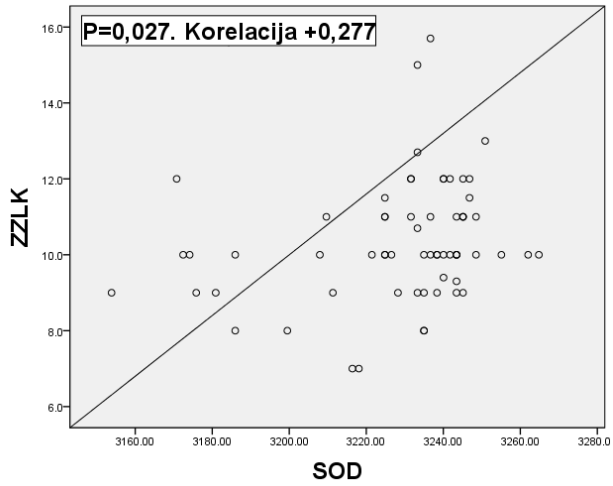
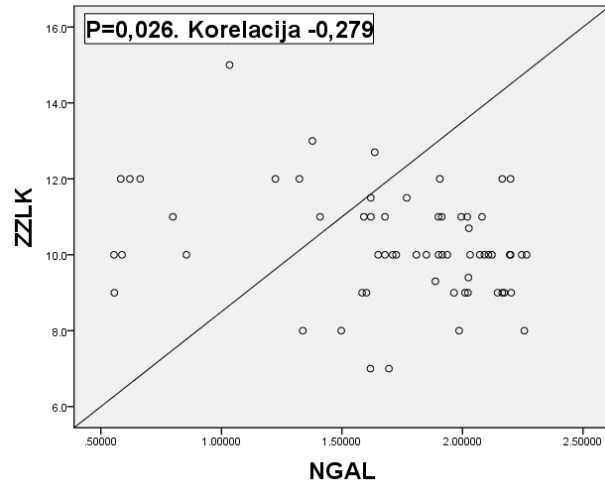
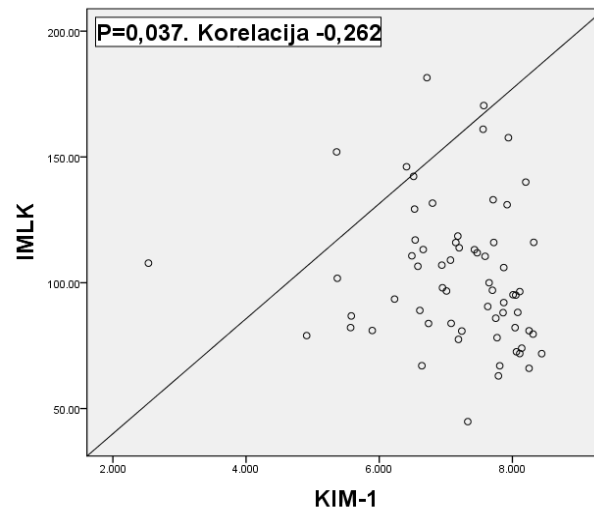
<b>mikroRNK-133a</b>	<b>Spirmanov koeficijent korelacije, r</b>	<b>p</b>
Hemoglobin (g/dL)	- 0.423	<b>0.002*</b>
Kalcijum (mmol/L)	- 0.371	<b>0.007*</b>
Fosfor (mmol/L)	0.363	<b>0.009*</b>
PTH (pg/mL)	0.275	0.061
Ukupni proteini (g/L)	-0.348	<b>0.013*</b>
Albumin (g/L)	-0.093	0.491
Holesterol (mmol/L)	0.038	0.777
Trigliceridi (mmol/L)	-0.275	0.053
Urea (mmol/L)	0.280	<b>0.047*</b>
Mokraćna kiselina (mmol/L)	-0.277	0.051
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	0.117	0.445
Gvožđe (µmol/l)	-0.137	0.318
Saturacija gvožđem	0.077	0.578
Feritin (ng/ml)	-0.058	0.679
C-reaktivni protein (mg/L)	-0.029	0.834

PTH=paratireoidni hormon.

#### **4.6. Korelacija biomarkera i ehokardiosonografskih parametara**

Analizirana je i korelacija između ispitivanih biomarkera i ehosonografskih parametara uzetih na početku studije. Od svih ispitivanih parametara, uočena je pozitivna korelacija između SOD i ZZLK ( $p=0,027$ , korelacija  $+0,277$ ) a negativna korelacija između NGAL i ZZLK ( $p=0,026$ , korelacija  $-0,279$ ) i između KIM-1 i IMLK ( $p=0,037$ , korelacija  $-0,262$ ), Grafikon 12.

Nije uočena korelacija između ostalih ispitivanih biomarkera i EHO parametara.

**A****B****C**

ZZLK=zadnji zid leve komore. SOD=superoksid dizmutaza. NGAL=*neutrophil gelatinase associated lipocalin*. KIM-1=*kidney injury molecule*.

**Grafikon 12.** Statistički značajne korelacije ispitivanih biomarkera i ehokardiosonografskih parametara

#### 4.7. Biomarkeri i incidentni kardiovaskularni događaji

Uporedna analiza ispitivanih biomarkera između bolesnika sa i bez KVD prikazana je u Tabeli 16. Nije uočena razlika u vrednostima biomarkera (SOD, IMA, IL-18, KIM-1 i NGAL) između dve grupe bolesnika. Takođe, nije uočena razlika u nivou mikroRNK-133a između dve ispitivane grupe.

**Tabela 16.** Biomarkeri na početku studije kod bolesnika sa i bez kardiovaskularnih događaja

	Sa KV događajima N=37	Bez KV događaja N=50	P
<b>Biomarkeri</b>			
SOD (ng/ml)	3232±64	3226±21	0,059
IMA (ng/ml)	58,5±91,6	78,8±102,1	0,340
IL-18 (pg/ml)	217±209	197±206	0,539
KIM-1 (ng/ml)	6,9±1,3	7,2±0,9	0,470
NGAL (ng/ml)	1,6±0,5	1,7±0,4	0,329
	Sa KV događajima <sup>#</sup> N=25	Bez KV događaja <sup>#</sup> N=26	P
ΔCt mikroRNK-133a	6,5 ± 2,0	6,2± 2,4	0,611

KV=kardiovaskularni. SOD=*superoxide dismutase*. IMA=*ischemia modifide albumin*. IL-18=*interleukin 18*. KIM-1=*kidney injury molecule-1*. NGAL=*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. # Subpopulacija bolesnika (N=51).

#### 4.8. Biomarkeri i hipertrofija leve komore

Po pitanju ispitivanih biomarkera jedino je uočena značajnost u vrednostima SOD koje su bile više u grupi bolesnika sa HLK (p=0,049). Takođe uočena razlika u nivou mikroRNK-133a između dve ispitivane grupe (Tabela 17.).

**Tabela 17.** Vrednosti ispitivanih biomarkera na početku studije kod bolesnika sa i bez hipertrofije leve komore

	Sa HLK <sup>+</sup> N=38	Bez HLK <sup>+</sup> N=38	P
<b>Biomarkeri</b>			
SOD (ng/ml)	3234±17	3221±27	<b>0,049*</b>
IMA (ng/ml)	71,6±98,8	68,4±98,4	0,969
IL-18 (pg/ml)	195±198	217±222	0,692
KIM-1 (ng/ml)	7,0±1,0	7,3±0,9	0,094
NGAL (ng/ml)	1,6±0,4	1,7±0,4	0,166
	Sa HLK <sup>#</sup> N=22	Bez HLK <sup>#</sup> N=29	P
ΔCt mikroRNK-133a	6,2±2,3	6,3±2,1	0,883

HLK=hipertrofija leve komore. SOD=*superoxide dismutase*; IMA=*ischemia modifide albumin*; IL-18=*interleukin 18*; KIM-1=*kidney injury molecule-1*; NGAL=*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. + Kod 11 bolesnika nije bilo moguće ehokardiosonografski odrediti indeks mase leve komore, a samim tim da li postoji hipertrofija leve komore. # Subpopulacija bolesnika (N=51).

#### 4.9. Biomarkeri i napredovanje hronične slabosti bubrega

Nije uočena razlika po pitanju ispitivanih biomarkera između bolesnika sa i bez napredovanja HBB (Tabela 18).

**Tabela 18.** Vrednosti ispitivanih biomarkera na početku studije i napredovanje hronične slabosti bubrega

	Sa napredovanjem HBB <sup>+</sup> N=14	Bez napredovanja HBB <sup>+</sup> N=36	P
<b>Biomarkeri</b>			
SOD (ng/ml)	3225±31	3222±19	0,183
IMA (ng/ml)	53,2±96,5	87,0±105,0	0,430
IL-18 (pg/ml)	100±146	239±212	0,076
KIM-1 (ng/ml)	6,7±1,5	7,2±0,9	0,342
NGAL (ng/ml)	1,8±0,2	1,8±0,2	0,904

HBB=hronična bolest bubrega. SOD=*superoxide dismutase*; IMA=*ischemia modifide albumin*; IL-18=*interleukin 18*; KIM-1=*kidney injury molecule-1*; NGAL=*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*. + U navedeni broj ispitanika nisu uključeni bolesnici koji se nalaze u završnom stadijumu HBB, ali i 13 bolesnika gde nije bilo moguće zabeležiti napredovanje HBB iz nekog razloga (smrt, napuštanje studije).

#### 4.10. Prediktori kardiovaskularnog obolevanja u hroničnih bubrežnih bolesnika

Koksovom regresijom je pokazana statistička značajnost po pitanju primene kalcijumskih antagonista i agenasa stimulacije eritropoeze u terapiji kao i po pitanju dobijenih vrednosti albumina, ureje i interventrikularnog septuma.

Sa svakom jedinicom porasta albumina od 1g/l smanjuje se verovatnoća nastanka KV događaja za 40% ( $p=0,001$ ; OR:0,60, 95% CI 0,446-0,817). Za svaku jedinicu porasta uree od 1 mmol/l verovatnoća za nastanak KV događaja se povećava za 1,33 puta ( $p=0,032$ ; OR: 1,33, 95% CI 1,025-1,730). Sa svakom jedinicom porasta dijametra intraventricularnog septuma od 1mm verovatnoća za nastanak KV događaja povećava se za 3,82 puta ( $p=0,006$ ; OR: 3,82, 95% CI 1,475-9,905).

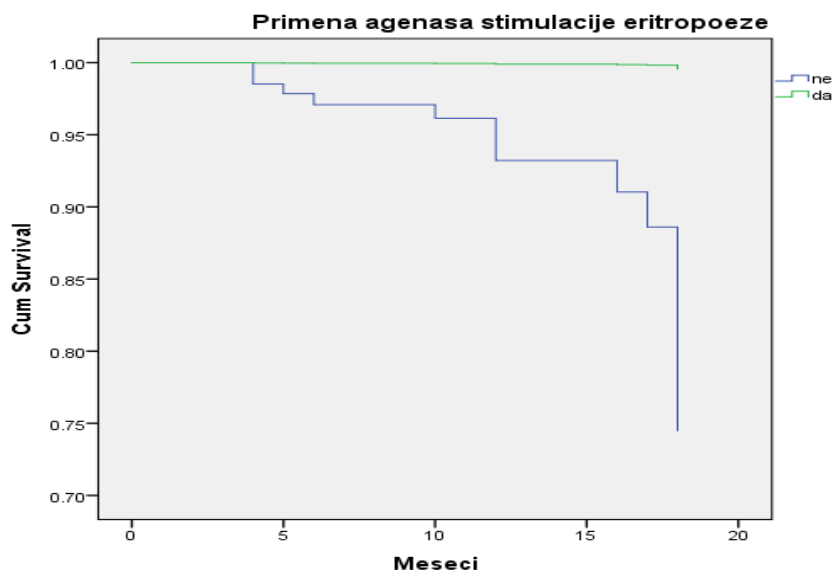
Bolesnici sa kalcijumskim antagonistima u hroničnoj terapiji imali su 23,33 puta veću verovatnoću da razviju KV događaj u odnosu na bolesnike koji ih nisu imali u terapiji ( $p=0,016$ ; OR: 23,33, CI 95% 1,792-303,989). Bolesnici sa agensima stimulacije eritropoeze u hroničnoj terapiji imali su 99% manju verovatnoću da razviju KV događaj u odnosu na bolesnike koji ih nisu imali u terapiji ( $p=0,019$ ; OR: 0,01, CI 95% 0,000-0,493) (Tabela 19 i Grafikon 13).

**Tabela 19.** Koksova regresiona analiza prediktora za nastanak kardiovaskularnih događaja u hroničnoj bolesti bubrega

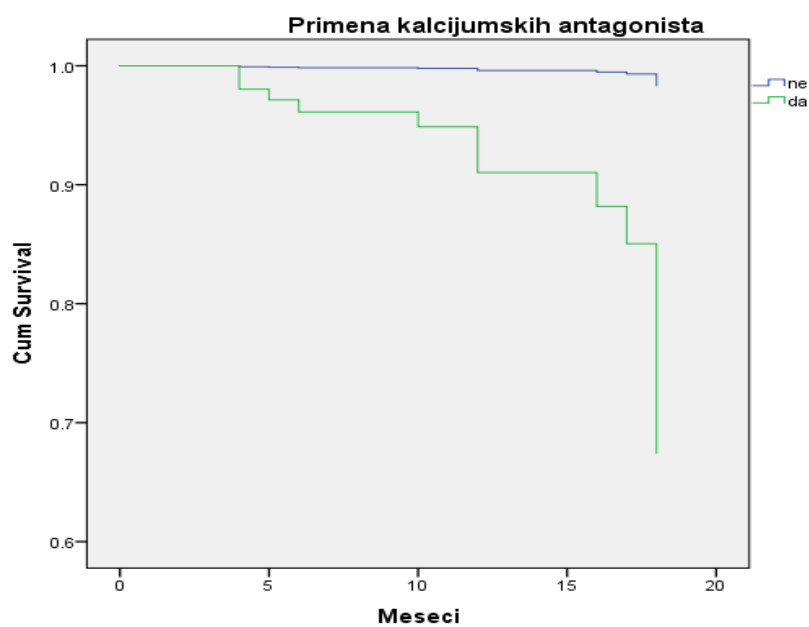
	<b>OR</b>	<b>CI (95%)</b>	<b>p</b>
<b>Agensi stimulacije eritropoeze</b>	0,015	0,000-0,493	<b>0,019*</b>
<b>Kalcijumski antagonisti</b>	23,338	1,792-303,989	<b>0,016*</b>
<b>Hipertrofija leve komore</b>	0,812	0,079-8,369	0,861
<b>Stabilna angina pektoris</b>	3,054	0,165-56,504	0,453
<b>Tnl-Ultra Troponin</b>	1132,508	0,022-58401936	0,204
<b>Hemoglobin</b>	1,105	0,535-2,281	0,788
<b>Albumin</b>	0,603	0,446-0,817	<b>0,001*</b>
<b>Urea</b>	1,331	1,025-1,730	<b>0,032*</b>
<b>Feritin</b>	0,997	0,986-1,009	0,666
<b>Masa leve komore</b>	0,979	0,943-1,016	0,258
<b>Indeks mase leve komore</b>	0,992	0,945-1,042	0,751
<b>Leva pretkomora</b>	1,172	0,954-1,439	0,132
<b>E/A odnos</b>	0,029	0,001-1,349	0,071
<b>E/e odnos</b>	1,162	0,857-1,576	0,334
<b>Zadnji zid leve komore</b>	0,297	0,078-1,128	0,075
<b>Interventrikularni septum</b>	3,822	1,475-9,905	<b>0,006*</b>



A



B



**Grafikon 13.** Kardiovaskularno preživljavanje hroničnih bubrežnih bolesnika i primenjena terapija

A- Bolesnici sa agensom stimulacije eritropoeze u terapiji imali su duže preživljavanje u odnosu na HBB bolesnike bez terapije

B- Bolesnici sa kalcijumskim antagonistima u terapiji ima li su kraće preživljavanje u odnosu na HBB bolesnike bez terapije

#### 4.11. Prediktori napredovanja hronične bolesti bubrega

Binarnom logističkom regresijom je pokazana statistička značajnost po pitanju vrednosti PTH i napredovanja HBB. Sa svakom jedinicom povećanja PTH od 1 pg/ml verovatnoća za napredovanje HBB se povećava za 1,06 puta ( $p=0,033$ ; OR: 1,059, 95% CI 1,004-1,116). Nije uočena značajnost po pitanju dobijenih vrednosti kalcijuma i albumina (Tabela 20).

**Tabela 20.** Binarna logistička regresija prediktora za napredovanje hronične bolesti bubrega

	<b>OR</b>	<b>CI (95%)</b>	<b>p</b>
<b>Kalcijum</b>	0,005	0,000-5540,724	0,457
<b>Albumin</b>	0,516	0,218-1,223	0,133
<b>Paratireoidni hormon</b>	1,059	1,004-1,116	<b>0,033*</b>

#### 4.12. Preživljavanje ispitivanih bolesnika

Na kraju praćenja od 18 meseci od ukupno 87 bolesnika uključenih u studiju ukupno je preminulo 12 bolesnika (opšti mortalitet). Preminuli bolesnici imali su statistički značajno niže vrednosti hemoglobina ( $p<0,001$ ), odnosno više vrednosti PTH ( $p=0,016$ ), feritina ( $p=0,013$ ) i ureje ( $p=0,001$ ) u odnosu na preživele bolesnike (Tabela 21).

Preminuli su imali više vrednosti SOD u odnosu na preživele ( $p=0,004$ ), ali nije uočena statistički značajna razlika po pitanju drugih ispitivanih biomarkera (Tabela 21).

Radom Koksove regresione analize statistička značajnost je jedino potvrđena za hemoglobin koji je povezan sa preživljavanjem bolesnika. Sa svakom jedinicom povećanja hemoglobina od 1 g/dl krvi dolazi do smanjenja verovatnoće za nastanak smrtnog ishoda za 79% ( $p=0,005$ ; OR: 0,21, CI 95% 0,074-0,622).

**Tabela 21.** Laboratorijske analize i vrednosti ispitivanih biomarkeri na početku studije kod preminulih/preživelih bolesnika

	<b>Preminuli N=12</b>	<b>Preživeli N=75</b>	<b>p</b>
<b>Laboratorijski rezultati</b>			
Hemoglobin (g/dL)	10,1±1,5	12,2±1,8	<b>&lt;0,001*</b>
Kalcijum (mmol/L)	2,2±0,1	2,2±0,3	0,155
Fosfor (mmol/L)	1,3±0,5	1,1±0,4	0,087
PTH (pg/mL)	240±267	106±107	<b>0,016*</b>
Ukupni proteini (g/L)	75±6	72±5	0,089
Albumini (g/L)	38±4	40±3	0,112
Holesterol (mmol/L)	4,4±0,9	4,7±1,1	0,419
Trigliceridi (mmol/L)	1,8±1,2	2,0±1,5	0,508
Mokraćna kiselina (mmol/L)	387±87	378±99	0,762
Tnl-Ultra Troponin (ng/ml)	0,03±0,05	0,03±0,1	0,052
Feritin (ng/ml)	250±122	161±133	<b>0,013*</b>
C-reaktivni protein (mg/L)	7,3±7,1	4,3±5	0,154
Urea (mmol/L)	24,1±7,7	15,1±8,0	<b>0,001*</b>
<b>Biomarkeri</b>			
SOD (ng/mL)	3246±11	3226±23	<b>0,004*</b>
IMA (ng/mL)	48±95	73±98	0,440
IL-18 (pg/mL)	204±258	205±200	0,831
KIM-1 (ng/ml)	6,9±0,7	7,1±1,1	0,095
NGAL (ng/ml)	1,4±0,6	1,7±0,4	0,358

PTH=paratireoidni hormon. SOD=superoxide dismutase; IMA=ischemia modifide albumin; IL-18=interleukin 18; KIM-1=kidney injury molecule-1; NGAL=neutrophil gelatinase-associated lipocalin.

## 5. Diskusija

Rezultati studije su pokazali da se sa napredovanjem HBB registruju brojni poremećaji u laboratorijskim i ehosonografskim parametrima, primenjenoj terapiji i ispitivanim biomarkerima. Ove promene su najizraženije kod bolesnika odmaklih stadijuma HBB što se posebno ogleda ne samo u vrednostima azotnih materija i parametrima anemije i poremećaja metabolizma minerala, već i po pitanju MLK, IMLK i IVS. Istovremeno, najveći morbiditet imaju bolesnici petog stadijuma HBB lečenih HD, a potom i četvrtog i 3b stadijuma, a u odnosu na bolesnike stadijuma 3a i kontrolne grupe. To je u saglasnosti sa KDIGO argumentom za podelu stadijuma 3 na „podstadijume“ 3a i 3b jer se upravo od stadijuma 3b značajno povećava učestalost kardiovaskularnih komplikacija u bolesnika sa HBB.

Sa napredovanjem HBB dolazi do nastanka sve izraženije anemije tako da su najniže vrednosti hemoglobina zabeležene u predijaliznoj i grupi bolesnika na HD. To je u saglasnosti sa dosadašnjim rezultatima; kako napreduje bubrežna bolest dolazi do sve većeg povećanja prevalencije anemije pa najveći broj bolesnika u završnom stadijumu HBB ima navedenu komplikaciju.<sup>169</sup> Anemija bubrežnih bolesnika je multifaktorijalnog porekla, posledica smanjenog lučenja eritropoetina, deficita folne kiseline i vitamina B12, poremećaja homeostaze gvožđa, skraćenog životnog veka eritrocita i prisustva uremijskih, toksičnih inhibitora eritropoeze i najčešće je normocitna, normohromna i hipoproliferativna.<sup>170</sup> Sama anemija u HBB doprinosi povećanju ukupnog i KV morbiditeta i mortaliteta, napredovanju bubrežne slabosti i jedna je od činilaca koji doprinosi nastanku i pogoršanju HLK, SS i ishemijske bolesti srca. Istovremeno, svojom simptomatologijom (malaksalost, vrtoglavica, brzo zamranje, pospanost, depresija) utiče na smanjenje kvaliteta života.<sup>170, 171</sup>

Pored anemije, naši rezultati pokazuju da se u grupi bolesnika sa progresivnom bubrežnom slabošću registruju više vrednosti iPTH i fosfora, a niže vrednosti serumskog kalcijuma i albumina. Poznato je da sa sniženjem JGF dolazi do porasta vrednosti PTH čije su najviše vrednosti zabeležene u HBB 4 i 5HD grupi, a navedeno je praćeno poremećajem metabolizma minerala pa sa daljim napredovanjem HBB dolazi do porasta vrednosti fosfora i pada u vrednostima serumskog kalcijuma. Istovremeno, kao netradicionalni faktor rizika sekundarni hiperparatireoidizam (SHPT) doprinosi povećanju KV morbiditeta i mortaliteta u HBB, a naši podaci ukazuju i na povezanost HLK i hiperfosfatemije. Visok fosfor je poznati kardiotoksin, a prema *CARDIA* studiji *Foley* i saradnika, serumski fosfor (u gornjoj granici normalnih vrednosti) u mladih osoba muškog pola je prediktor koronarnih kalcifikacija posle 15 godina praćenja, što ga uz nastanak renalne osteodistrofije čini bitnim faktorom koji utiče na smanjenje kvalitet života i preživljavanje bubrežnih bolesnika.<sup>172,173,174</sup>

Malnutricija je manje istraživana kod bolesnika sa HBB predijaliznog stadijuma. U bolesnika sa progresivnom HBB zapaža se i snižena vrednost albumina, ali je taj nalaz teže tumačiti s obzirom da su to možda bolesnici sa povećanim gubitkom albumina (proteinurija) ili dijetom što našom studijom nije analizirano. Kod bolesnika uključenih u studiju sa daljim napredovanjem HBB dolazi do pada u vrednostima ukupnih proteina, albumina i triglicerida, pa su najniže vrednosti pomenutih biohemijskih parametara zabeležene u grupi bolesnika na HD. Ovaj nalaz je karakterističan i za malnutriciju koja predstavlja čestu komplikaciju i netradicionalni KV faktor rizika kod obolelih od HBB. Malnutricija se karakteriše gubitkom telesnih proteina koji može biti praćena gubitkom rezervi masnog tkiva, najčešće je posledica smanjenog unosa hranljivih materija, ali i dejstva većeg broja drugih faktora koji su najvećim delom specifični za HBB.<sup>175</sup> Faktori koji dovode do malnutricije u HBB i samim tim do lošijih rezultata koji se prikazuju niskim vrednostima izmerenih proteina i lipida u serumu bolesnika su mnogobrojni: oslabljen apetit i hipoproteinska dijeta, smanjena gastrointestinalna apsorpcija usled uremijske gastroenteropatije, inflamacija, povećan katabolizam, hormonski disbalans i prisustvo

mnogobrojnih komplikacija vezanih za dijalizu.<sup>175,176</sup> Već je ranije pomenuta važnost malnutricije i njena povezanost sa inflamacijom i aterosklerozom (MIA sindrom) sa kojima zajedno doprinosi povećanju KV morbiditeta i mortaliteta u HBB.<sup>91,92</sup>

Prema prikazanim rezultatima, sa napredovanjem HBB dolazi do porasta vrednosti Tnl-Ultra Troponina i feritina čije su najviše vrednosti zabeležene u predijaliznoj i dijaliznoj grupi ispitivanih bolesnika. Tumačenje povišenih kardiospecifičnih enzima, a pogotovo troponina, u obolelih od HBB i dalje je kontroverzno s obzirom da troponin može biti povišen u odmaklim stadijumima HBB kod bolesnika koji nemaju simptome i znake ishemijske bolesti srca.<sup>177</sup> Navedeno se najverovatnije može objasniti, smanjenim bubrežnim klirensom troponina usled smanjenja JGF, ali i postojanjem uremijske kardiomiopatije koja dovodi do oštećenja strukture i funkcije ćelijske membrane kardiomiocita sa sledstvenim nastankom „curenja“ troponina u ekstracelularni prostor. Sve je više mišljenja da je troponin kod HBB pre prognostički no dijagnostički marker i da referentne vrednosti kod HBB nisu iste kao u opštoj populaciji.<sup>178,179</sup> Feritin je jedan od dobro poznatih markera inflamacije i značajan kardiovaskularni faktor rizika. Njegove povišene vrednosti u HBB 4 i 5HD grupi bolesnika su najverovatnije pokazatelj prisustva faktora rizika koji su sve izraženiji sa napredovanjem HBB, misleći na mikroinflamaciju i povišeni oksidativni stres.<sup>180</sup> Svakako ne treba zanemariti ni terapiju gvoždem shodno postojećim vodičima, funkcionalni deficiti gvožđa, transfuzije i infekcije vaskularnih pristupa dijaliznih bolesnika što sve zajedno može dovesti do povećanja vrednosti serumskog feritina kod obolelih od HBB.

Primenjeni lekovi mogu imati uticaj na neke komplikacije koje se sreću tokom HBB. Bolesnici na HD koji su bili uključeni u našu studiju najčešće su koristili lekove iz grupe agenasa stimulacije eritropoeze (ASE), antiagreganasa i sartana. Sasvim je očekivano da su ASE najviše primenjivani u grupi dijaliznih bolesnika s obzirom na visoku zastupljenost anemije bubrežnog porekla i neophodnost njenog lečenja primenom navedene grupe lekova. Takođe, lekovi iz grupe antiagreganasa najčešće su korišćeni u cilju primarne i sekundarne prevencije KV događaja, ali i profilakse tromboze dijaliznih vaskularnih pristupa. I na kraju, sartani su bili lekovi izbora u lečenju HTA kod dijaliznih bolesnika onda kada je terapija zahtevala primenu više lekova u cilju bolje regulacije arterijskog pritiska.

Napredovanje HBB predstavlja najveći terapijski izazov. U našoj ispitivanoj grupi bolesnika kod kojih je registrovano napredovanje HBB tokom 18 meseci studijskog praćenja zapažene su niže vrednosti kalcijuma i albumina, odnosno više vrednosti iPTH u odnosu na grupu bolesnika bez napredovanja HBB. Hipokalcijemija i povišene vrednosti PTH su poremećaji koji se opisuju u sastavu SHPT koji je prepoznat kao faktor rizika koji doprinosi nastanku KV obolevanja, ali i samom napredovanju HBB usled razvijanja kardiorrenalnog sindroma tip 4.<sup>95</sup> Snižene vrednosti serumskog albumina mogu da budu jedan od pokazatelja malnutricije, pod uslovom da bolesnik nije na rigoroznoj hipoproteinskoj dijeti ili ima veliki gubitak usled proteinurije, koja je jedna od uobičajenih komplikacija HBB sa prevalencom koja se kreće između 28-65%.<sup>181,182</sup> Postoji veliki broj faktora koji doprinose nastanku hipoalbuminemije koji su sve izraženiji kako napreduje HBB, poput inflamacije, oksidativnog stresa, smanjenog apetita, nastanka uremijske gastroenteropatije. Međutim, u našim rezultatima binarna logistička regresiona analiza potvrdila je jedino PTH kao faktor koji je povezan sa napredovanjem HBB, pa tako sa svakom jedinicom povećanja iPTH za 1 pg/ml dolazi do 1,06 puta veće verovatnoće za dalje napredovanje HBB. Navedeno samo potvrđuje ranije izrečene stavove po pitanju SHPT i daljeg pogoršanja bubrežne funkcije.<sup>95</sup>

Ehokardiografski pregled obolelih od HBB urađen je na početku studije i posle 12 meseci praćenja. U oba preseka primećeno je da sa višim stadijumom HBB postoji i porast MLK i IMLK čije su najviše vrednosti izmerene u predijaliznoj i grupi bolesnika na HD dok je u 12 mesecu primećen i porast

debljine IVS sa višim stadijumom HBB te su najveće vrednosti opet zabeležene u grupi bolesnika na HD. Rezultati su u skladu sa podacima iz literature koji ukazuju da tokom započinjanja lečenja dijalizama oko 75% bolesnika već ima znake HLK, a taj procenat raste u najvećem broju slučajeva tokom trajanja dijalize.<sup>183</sup> Prema prikazanim rezultatima, HLK je bila značajno povezana sa niskim vrednostima hemoglobina i hiperfosfatemijom. Takođe, prikazana anemija kao netradicionalni KV faktor rizika najčešće dovodi do nastanka ekscentrične HLK kod obolelih od HBB. Poznata je i činjenica da sa svakim padom vrednosti hemoglobina od 10 g/l dolazi do povećanja IMLK za 10 g/m<sup>2</sup> što je jedan od parametara za postavljanje dijagnoze HLK.<sup>85</sup> Ranije studije došle su do zaključka da je fosfor jedan od bitnih faktora koji doprinosi strukturnim i funkcionalnim promenama srca, a da je vaskularna kalcifikacija kojoj hiperfosfatemija doprinosi jedan od glavnih faktora koji doprinosi nastanku HLK.<sup>184,185</sup> Serumski fosfor korelira sa HLK pa što je bolja njegova kontrola samim tim dolazi do smanjenja IMLK.<sup>186</sup>

HLK je, između ostalog, praćena promenama i povećanjem vrednosti pojedinih ehokardiosonografskih parametara poput MLK, IMLK i IVS što je prikazano i našom studijom. Predstavlja osnovu za nastanak uremijske kardiomiopatije i povezana je sa nastankom hroničnog kardiorenalnog sindroma tip 4.<sup>187</sup> Navedeni rezultati naše studije najverovatnije su posledica dejstva velikog broja faktora rizika čija prevalenca raste sa napredovanjem HBB, među kojima izdvajamo faktore rizika koji opterećuju levu komoru pritiskom (HTA, arterioskleroza, aortna stenoza) i opterećuju levu komoru volumenom (hipervolemija, anemija, visokoprotičan vaskularni dijalizni pristup).<sup>188, 189, 190</sup> Kada znamo da je najveći broj pomenutih faktora rizika prisutan kod predijalizne i dijalizne populacije bolesnika onda je i očekivano da u tim grupama obolelih imamo najveće izmerene vrednosti parametara koji definišu morfologiju leve komore.

Posle analize celokupne populacije ispitanika po stadijumima HBB i subpopulacije bolesnika sa i bez napredovanja HBB odnosno sa i bez HLK, detaljno smo analizirali subpopulaciju bolesnika sa novonastalim kardiovaskularnim događajima koji su nastali tokom vremena praćenja. Izrazito povećan morbiditet i mortalitet obolelih od HBB prevashodno je posledica velike zastupljenosti KVB, a među kojima se izdvajaju SS, KAB, srčane aritmije i nagla srčana smrt.<sup>3,4</sup> Više od 50% obolelih koji se nalaze na hroničnom programu lečenja dijalizom imaju neku od KV bolesti, a relativni rizik od nastanka KV smrtnog ishoda je veći 20 puta u odnosu na opštu populaciju.<sup>174</sup> Tokom studije koja je trajala 18 meseci KV događaji su registrovani kod 42,5% bolesnika obolelih od HBB, dok je očekivano najveći broj KV događaja registrovan u grupi HD bolesnika - čak 45,9% od ukupnog broja svih KV događaja. Samim tim, navedeni rezultati su u skladu sa ranijim epidemiološkim podacima i iskustvima koji govore o visokom riziku za razvoj i nastanak KV bolesti u populaciji bubrežnih bolesnika.

Primećeno je da su bolesnici sa KV događajem imali veću zastupljenost stabilne angine pektoris i HLK u odnosu na bolesnike bez registrovanih događaja te navedeno može da se objasni činjenicom da se najveći broj novonastalih KV bolesti odnosio na dekompenzovanu srčanu slabost, nestabilnu anginu pektoris i infarkt miokarda. Takođe, bolesnici sa KV događajem više su koristili lekove iz grupe kalcijumskih antagonista i ASE u cilju lečenja izraženije anemije u odnosu na bolesnike bez KV oboljevanja.

Lekovi iz grupe ASE i kalcijumskih antagonista, pokazali su se kao faktori koji su povezani sa nastankom KV događaja u HBB. Bolesnici koji su imali ASE u redovnoj terapiji anemije bubrežnog porekla imali su 99% manju verovatnoću za nastanak KV događaja. Anemija putem hipoksije i povećanog oksidativnog stresa dovodi do fibroze tubulointercijuma bubrega, zbog čega je prepoznata kao faktor rizika koji doprinosi napredovanju HBB, a poznato je da doprinosi nastanku i razvoju KAB i SS.<sup>192,193</sup> Na osnovu navedenog može se uvideti važnost primene adekvatne terapije u lečenju anemije

bubrežnog porekla primenom lekova iz grupe ASE što doprinosi kako usporavanju napredovanja HBB tako i nastanku KV obolevanja.

Naša studija takođe je dovela do rezultata koji navode da upotreba kalcijumskih antagonista dovodi do povećanja KV morbiditeta i mortaliteta kod obolelih od HBB, pa je kod bolesnika sa navedenim lekom u svojoj redovnoj terapiji postojala 23,3 puta veća verovatnoća od razvijanja KV događaja. Starije studije su došle do zaključka da je kod nekih bolesnika veća verovatnoća od nastanka infarkta miokarda ako koriste brzodelujuće kalcijumske antagoniste za lečenje HTA umesto beta blokatora, a sam rizik se povećava sa povećanjem doze lekova. Prethodno navedeno je takođe potvrđeno kod starijih bolesnika lečenih od HTA sa brzodelujućim antagonistima kalcijuma koji su imali povećan mortalitet.<sup>194</sup> Međutim, ovaj rezultat je najverovatnije posledica male veličine uzorka i činjenice da je većina bolesnika sa HBB (grupa bolesnika sa najvećim brojem KV događaja) imala neki od kalcijumskih antagonista u svojoj redovnoj terapiji.

U ispitivanju faktora rizika KV događaja, vidi se da su bolesnici sa KV događajima imali značajno niže vrednosti hemoglobina u odnosu na grupu bolesnika bez KV obolevanja. Anemija je dobro poznat netradicionalni faktor rizika za KV obolevanje koja se u HBB javlja kada klirens kreatinina padne ispod 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, a ujedno doprinosi i napredovanju bubrežne bolesti. Hronična anemija povećava *preload*, smanjuje *afterload* srca i dovodi do povećanog srčanog rada.<sup>195</sup> Takođe, dovodi do nastanka maladaptivne HLK, pogoršanja SS i postojeće ishemijske bolesti srca usled smanjenog snadbevanja kiseonikom, a sama anemija je bitan faktor rizika koji dovodi do nepovoljnog ishoda KV bolesnika, pogotovo u HBB, tako da navedeno objašnjava rezultat naše studije.<sup>196,197,198,176</sup> Ipak u našoj studiji, radom Koksove regresione analize hemoglobin se nije pokazao kao faktor koji je povezan sa nastankom KV događaja.

Kao i u celokupnoj ispitivanoj populaciji, tako su i bolesnici iz grupe sa KV događajima imali značajno niže vrednosti serumskog albumina u odnosu na grupu bolesnika bez KV obolevanja. Malnutricija, kao netradicionalni KV faktor rizika, dolazi do izražaja sa daljim napredovanjem HBB. Malnutricija, pored toga što je praćena gubitkom somatskih proteina i rezervi masnog tkiva, praćena je i sniženim vrednostima mnogobrojnih biohemijskih parametara, među kojima se ističu albumini, prealbumini i transferin.<sup>88</sup> Poznata je i uloga MIA sindroma koji dovodi do povećanja opšteg i KV morbiditeta i mortaliteta pogotovo u ranjivoj grupi bubrežnih bolesnika.<sup>92</sup> Koksova regresiona analiza potvrdila je povezanost albumina sa nastankom KV događaja u populaciji obolelih od HBB. Sa svakim povećanjem vrednosti albumina za 1g/l dolazi do smanjenja verovatnoće nastanka KV događaja za 40%. Navedeni rezultat govori o izuzetnoj važnosti primene mera u pogledu prevencije nastanka i lečenja malnutricije što bi svakako dovelo do smanjenja morbiditeta i mortaliteta bubrežnih bolesnika. Naši rezultati su u skladu sa nalazima velikog broja drugih autora koji su svojim istraživanjima dokazali snažnu povezanost albumina sa nastankom KV događaja u obolelih od HBB kao i njegovu prediktivnu moć, tj. potvrdu albumina kao biomarkera KV bolesti.<sup>199,200,201</sup>

Primećeno je da su bolesnici sa KV događajima imali značajno više vrednosti Tnl-Ultra Troponina u odnosu na bolesnike bez KV obolevanja, a povišene vrednosti nisu bile samo posledica razvijanja akutnog infarkta miokarda. Već je ranije pomenuto koji su mehanizmi u osnovi povišenih vrednosti troponina u HBB. Takođe, pomenuto je da se troponin pokazao kao dobar prediktor KV ishoda, a da su njegove povišene vrednosti povezane sa teškom, difuznom KAB dijaliznih i nedijaliznih bolesnika i sa nepovoljnim ehokardiografskim nalazom i lošijim preživljavanjem bolesnika koji čekaju transplantaciju.<sup>111,112</sup> Ipak, radom Koksove regresione analize naša studija nije potvrdila povezanost troponina kao faktora rizika u nastanku KV događaja.

Bolesnici sa KV događajima imali su više vrednosti feritina u odnosu na grupu bolesnika bez KV obolevanja. Visoke vrednosti rezervi gvožđa u vidu feritina imaju toksičan efekat na veći broj organa i organskih sistema, među kojima se nalazi i miokard.<sup>202</sup> Ranije opservacione studije potvrdile su povezanost feritina sa nastankom KAB, dok su visoke vrednosti feritina kod muškaraca bile povezane sa povećanim opštim i KV mortalitetom.<sup>203,204</sup> Ne treba zaboraviti ni ranije pomenute tvrdnje o tome da je feritin ujedno i marker inflamacije čije vrednosti rastu sa napredovanjem HBB što je posledica povećanja inflamacije i oksidativnog stresa i sve većeg i izraženijeg toksičnog efekta na KV sistem.<sup>180</sup> Radom Koksove regresione analize naša studija nije potvrdila povezanost feritina sa nastankom KV događaja.

Vrednosti ureje bile su više kod bolesnika sa registrovanim KV događajem u odnosu na bolesnike bez KV obolevanja. Postavlja se pitanje da li je ureja nepovoljni faktor rizika ili je ona surogat marker u sklopu napredovanja HBB. Ranije studije i biohemijaska ispitivanja potvrdila su više nego štetan i toksičan efekat ureje koji doprinosi nastanku KV bolesti i povećanju morbiditeta i mortaliteta. Ureja deluje na napredovanje i ubrzavanje procesa ateroskleroze, pojačava endotelnu disfunkciju i insulinsku rezistenciju i dovodi do smanjenja sekrecije insulina.<sup>205</sup> Zaključno, eksperimentalne studije ukazuju na toksičnost ureje koja je direktna, ali i indirektna preko stvaranja jedinjenja poput cijanata, amonijaka i karbamiliranih jedinjenja što dovodi do molekularnih promena, tkivnih oštećenja i na kraju do daljeg napredovanja HBB i KV obolevanja.<sup>206</sup> U prilog ureji kao faktoru rizika govori i Koksova regresiona analiza koja je potvrdila njenu povezanost sa nastankom KV bolesti tako da sa svakim povećanjem vrednosti ureje za 1 mmol/l dolazi do povećanja verovatnoće nastanka KV događaja 1,33 puta. Navedeni rezultat samo potvrđuje ranije izrečeno da je HBB udružena sa visokim KV morbiditetom i mortalitetom obolelih te da svaka primena mera u usporavanju napredovanja HBB dovodi do smanjenja KV komplikacija i povećanja preživljavanja bolesnika.

Hipertrofija leve komore je od posebnog značaja za HBB. Stoga su i ispitivane i poredjenje subpopulacije bolesnika sa HLK i bez HLK. Naša studija je pokazala da su bolesnici sa KV događajem (N=37) imali veće vrednosti MLK, IMLK, debljine ZZLK i IVS u oba preseka u odnosu na bolesnike bez registrovanog KV obolevanja (N=50). Pošto znamo da većina bolesnika sa KV događajem ima ehokardiosonografski postavljenu dijagnozu HLK i da u HBB postoji veliki broj faktora rizika koji dovode do njenog nastanka, sasvim je očekivano da ova grupa bolesnika ima povišene vrednosti prethodno navedenih EHO parametara koji ujedno mogu biti povišeni kod srčane hipertrofije. Bolesnici sa KV događajem imali su izmereni veći dijametar LP u odnosu na grupu bez događaja. Uvećana LP zapravo je znak poremećene dijastolne funkcije leve komore i posledica je povećanog *preload*-a ili *afterload*-a LP i dejstva faktora koji su zastupljeni u HBB (hipervolemija, hronična anemija, HLK, HTA, dijalizni vaskularni pristup).<sup>207</sup> Od svih ehokardiosonografskih parametara, Koksovom regresionom analizom je potvrđena jedino povezanost debljine IVS sa nastankom KV događaja u obolelih od HBB. Sa svakim povećanjem debljine septuma za 1mm verovatnoća nastanka KV događaja povećava se za 3,82 puta. Naš rezultat je u skladu sa ranijim tvrdnjama autora između ostalog i *Huang i saradnika* koji su došli do zaključka da je povećanje debljine IVS bitan prediktor povećanog mortaliteta kod osoba koje imaju KAB.<sup>208</sup> Pošto se povećanje debljine IVS može očekivati u sklopu HLK, svaka primena mera protiv faktora koji doprinose nastanku hipertrofiji srca dovodi i do sprečavanja ili čak smanjenja IVS, a samim tim i do smanjenja KV oboljevanja.

Pored parametara koji su pokazatelji morfoloških promena na srcu ističu se i pojedini koji su pokazatelji poremećene dijastolne funkcije poput E/A i E/e odnosa čije se dobijene vrednosti razlikuju između dve grupe bolesnika. E/A odnos bio je niži na početku studije kod bolesnika sa incidentnim KV događajem, dok je E/e odnos i na početku i nakon 12 meseci praćenja bio viši kod obolelih sa KV



dogadjem u odnosu na grupu bolesnika kod kojih nije registrovan KV događaj. U pojedinim studijama dva navedena parametra pokazala su se pouzdanim u pogledu ranog otkrivanja HLK i dijastolne disfunkcije među populacijom bolesnika sa HBB.<sup>209</sup> Ovo ipak smatramo sporednim nalazom s obzirom da se navedeno nije pokazalo značajnim putem Koksove regresione analize, a da pri tome nismo radili dodatne ehokardiosonografske parametre kojima bi se moglo jasno definisati postojanje dijastolne disfunkcije leve komore kao i njen stadijum.

Analizom biomarkera po stadijumima HBB, pokušali smo da utvrdimo vreme kada se oni menjaju tokom evolucije bolesti, kada mogu poslužiti u prediktivne svrhe i šta su faktori rizika njihovih povišenih vrednosti.

Iako se svrstavaju u grupu takozvanih markera akutnog oštećenja bubrežne funkcije, KIM-1 i NGAL su ispitivani i u većem broju studija kod bolesnika sa HBB a naš cilj je bio da odredimo njihovu ulogu u KV posledicama. Naime, primećeno je da sa napredovanjem stadijuma HBB dolazi do pada u dobijenim vrednostima serumskog KIM-1 čije su najniže vrednosti zabeležene u predijaliznoj grupi bolesnika. Pošto znamo da se navedeni marker akutnog oštećenja bubrega oslobađa iz epitelnih ćelija proksimalnog tubula bubrega po štetnom dejstvu agensa, snižene vrednosti KIM-1 najverovatnije su posledica napredovanja HBB, fibroze tubulointersticijuma i gubitka pomenutog glavnog izvora stvaranja KIM-1.<sup>146,210</sup> Takođe, primećeno je da grupa bolesnika na HD ima više vrednosti KIM-1 u odnosu na bolesnike HBB 4 grupe. O tome nema podataka u literaturi ali je moguće da je to ili uticaj same dijalize i neadekvatnog odstranjivanja molekula KIM-1 preko dijalizne membrane ili vanbubrežnog stvaranja u grupi HD bolesnika, ali navedeno zahteva dalje ispitivanje. Značaj ovih povišenih vrednosti u završnom stadijumu bubrežne bolesti nije jasan ali može imati neke patogenetske posledice po KV sistem.

Slični rezultati dobijeni su i za NGAL molekul pa tako sa daljim napredovanjem HBB dolazi do pada u dobijenim vrednostima urinarnog NGAL ali su najniže vrednosti zabeležene u grupi bolesnika na HD. Molekul NGAL eksprimiran je primarno u bubrežnim tubulocitima, ali i imunskim ćelijama i hepatocitima, predstavlja mali polipeptid koji je otporan na dejstvo proteaza što ga čini lako detektabilnim u urinu i pouzdanim markerom.<sup>210</sup> Ovo je najverovatnije posledica gubitka primarnog izvora stvaranja markera usled napredovanja HBB i fibroze koja dovodi do gubitka tubulocita što se odražava sve nižim vrednostima NGAL sa višim stadijumima HBB. Naš rezultat nije u skladu sa dobijenim rezultatom *Bolignano i saradnika*<sup>211</sup> gde je primećena negativna korelacija serumskog i urinarnog NGAL sa JGF tj. progresija HBB praćena je porastom NGAL i obrnuto što nije slučaj u našoj studiji. Pojedina istraživanja govore o tome da povišena vrednost NGAL zapravo predstavlja kompenzatorni i protektivni odgovor bubrega koji bi pomogao u prevazilaženju i smanjenu štete nanesene bubrežnom tkivu poput one koja se javlja u uslovima hipoksije.<sup>212,213</sup> Navedeni rezultati zahtevaju dalje istraživanje kako bi se razjasnilo da li je NGAL zapravo pokazatelj sposobnosti bubrega da se „brani“ od dejstava štetnog agensa ili samo marker propadanja bubrežne funkcije.

Pored markera akutnog oštećenja bubrega, ispitivani su markeri oksidativnog stresa kao faktori KV rizika. Već je pomenuto da je SOD najefikasniji intracelularni enzim prve linije odbrane protiv reaktivnih kiseoničnih radikala.<sup>137</sup> Za razliku od najvećeg broja studija gde je određivana intraćelijska i/ili aktivnost enzima u krvnoj plazmi, naša studija određivala je aktivnost SOD u serumu ispitanika. U skladu sa literaturnim podacima, najviše vrednosti SOD zabeležene su u našoj grupi predijaliznih i dijaliznih bolesnika što se najverovatnije može objasniti kompenzatornim, odbrambenim mehanizmom kao vid reakcije organizma protiv povišenog oksidativnog stresa koji je sve izraženiji sa napredovanjem HBB. Ipak, veliki broj studija imao je različite rezultate po pitanju aktivnosti SOD u HBB pa tako njena aktivnost je povećana u leukocitima, ali je smanjena u eritrocitima obolelih od

HBB, premda je poslednje najverovatnije posledica skraćenog životnog veka eritrocita.<sup>214</sup> Činjenica je da studije govore o disregulaciji aktivnosti SOD u populaciji bubrežnih bolesnika u odnosu na opštu populaciju. Takođe, sa napredovanjem HBB dolazi do pojačavanja inflamacije koja svojim delovanjem dovodi do povišenog oksidativnog stresa što sve zajedno doprinosi ubrzanom procesu nekroze i fibroze unutar bubrežnog tkiva i daljoj progresiji bubrežne bolesti. Potom, sa daljim napredovanjem bolesti uremijski toksini još više pojačavaju inflamaciju i oksidativni stres što samo zatvara začarani krug.<sup>215,216</sup> Za razliku od SOD, vrednosti IMA, drugog markera redoks sistema koji smo ispitivali, nisu se razlikovale po stadijumima HBB. Dobijeni rezultat nije moguće uporediti sa nekim ranijim rezultatima pošto je ispitivanje IMA mahom rađeno kod hemodijaliznih bolesnika poredeći vrednosti pre i posle dijalizne sesije i poredeći dobijene vrednosti između HD i opšte populacije, ali ne i po stadijumima HBB. S obzirom da se radi o relativno novijem biomarkeru i indirektnom pokazatelju oksidativnog stresa neophodno je nastaviti njegovo dalje ispitivanje po stadijumima HBB, ali sa uključivanjem većeg broja ispitanika uz serijsko ponavljanje određivanja njegovih vrednosti.<sup>217,218</sup>

Uprkos dobro poznatoj činjenici da HBB zapravo predstavlja stanje mikroinflamacije, u našoj studiji nije primećena razlika u dobijenim serumskim vrednostima IL-18 po stadijumim HBB niti u odnosu na zdrave kontrole. Navedeni rezultati su u suprotnosti sa ranijim studijama koji govore u prilog povišenih vrednosti ispitivanog markera u HBB, pogotovo u populaciji bolesnika na HD.<sup>219</sup> Navedeno se najverovatnije može objasniti malim brojem ispitanika uključenih u studiju ili karakteristikama naših hemodijaliznih bolesnika koji su u najvećem broju slučajeva imali nativnu AVF za razliku od vaskularnog katetera i vaskularne proteze za koje se zna da su osnovni izvor inflamacije kod hemodijaliznih bolesnika.<sup>220,221</sup>

Familija mikroRNA je sve češće predmet naučnog istraživanja u raznim indikacijama a pre svega po pitanju KV ishoda gde mikroRNA-133 zauzima važno mesto. Analizom mikroRNK-133a po stadijumima, vidi se da postoji tendencija povećanja serumskog nivoa mikroRNK-133a tokom evolucije HBB. Najviši nivo mikroRNK-133a primećen je u grupi bolesnika na hemodijalizi. Povećani nivo mikroRNK-133a primećen je u grupi bolesnika sa hipertenzivnom nefroangiosklerozom, što je takođe jedan od osnovnih uzroka HBB. Navedeni rezultat verovatno ukazuje na povezanost mikroRNK-133a sa napredovanjem bubrežne fibroze koja u osnovi ima hipertenzivnu nefroangiosklerozu. Ovaj nalaz je u saglasnosti sa studijama koje su pokazale da različite mikroRNK imaju ulogu u stimulaciji bubrežne fibroze kod bolesnika sa arterijskom hipertenzijom putem različitih signalnih puteva.<sup>222,223</sup> Ovo tumačenje je ipak pretpostavka koje zahteva dalje ispitivanje i potvrdu primenom patohistološke analize i procene stepena bubrežne fibroze.

Kako je napomenuto, u našoj studiji velika pažnja je posvećena ispitivanju biomarkera pa i po pitanju incidentnih KV bolesti. Međutim, rezultati naše studije nisu uvek bili i očekivani te to još jednom zahteva razmatranje istih u svetlu literaturnih podataka. Tako naši rezultati nisu bili u skladu sa dobijenim rezultatima studije *Formanowicz i saradnika* koja je uključila 126 bolesnika sa postavljenom dijagnozom HBB kod kojih je ispitivana povezanost markera inflamacije IL-18 sa KV mortalitetom tokom dvogodišnjeg perioda praćenja.<sup>133</sup> Zaključak studije bio je da IL-18 može biti indikator KV mortaliteta pogotovo kod bolesnika sa HTA i bez DM, a posebno u grupi HD bolesnika sa dužim dijaliznim stažom. Ipak ova studija je imala duži vremenski period praćenja, sa većim brojem ispitanika i što je najvažnije poredila je tri grupe bolesnika (HD bolesnici vs. HBB 3-4 vs. HBB 1-2) tako da je u istraživanje uključena i grupa bolesnika sa JGF preko 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> kod koje je očekivana manja inflamacija i niži KV mortalitet. Takođe, prospektivna opservaciona studija *Wang i saradnika* došla je do zaključka da HD bolesnici sa višim vrednostima IL-18 imaju daleko veću šansu za nastanakom velikih neželjenih KV događaja (MACE; *major adverse cardiovascular events*), ali i ova studija je

uključila veći broj dijaliznih bolesnika koji su poređeni sa velikom grupom zdravih kontrola što se razlikuje od naše.<sup>224</sup>

Oksidativni stres u HBB zahvata i oštećuje veliki broj organskih sistema sa posledičnim nastankom većeg broja klinički značajnih posledica, među kojima se ističe dalje napredovanje bubrežne bolesti, nastanak srčane hipertrofije i HLK kao i endotelna disfunkcija sa aterosklerozom.<sup>225</sup> Veliki broj studija naglašava važnost terapije u cilju borbe protiv oksidativnog stresa poput *SPACE* studije (*Secondary Prevention with Antioxidants of Cardiovascular Disease in End-stage Renal Disease*) i istraživanja *Tepel i saradnika* čiji rezultati govore u prilog smanjenja KV bolesti kod bubrežnih bolesnika sa primenom terapije.<sup>226,227</sup> Opet, da bi primenili terapiju neophodno je jasno izdvojiti bolesnike sa povišenim KV rizikom primenom biomarkera oksidativnog stresa što je između ostalog i bio cilj našeg istraživanja. Marker koji je predmet interesovanja našeg istraživanja ispitivan je u većem broju studija poput studije *Gómez-Marcos i saradnika* koji su potvrdili povezanost SOD sa promenama u vaskularnim strukturama bolesnika sa HTA i DM što svakako doprinosi bržem nastanku KV bolesti te su autori savetovali dalja istraživanja kako bi se ispitala prediktivna moć za KV rizik shodno vrednostima SOD.<sup>228</sup> Neka istraživanja potvrđuju povezanost SOD sa KAB što je ranije napomenuto.<sup>138,139</sup> Naši rezultati nisu potvrdili povezanost SOD sa KV bolestima u našoj populaciji HBB i pored toga što je najveći broj naših bolesnika imao HTA i DM. Pošto je SOD antioksidativni enzim koji je najvećim delom prisutan unutarćelijski, neophodno je ponoviti ispitivanje na većem broju bolesnika sa HBB sa određivanjem enzimske aktivnosti na ćelijskom, a ne vanćelijskom nivou (plazma/serum) što je rađeno u našem istraživanju, a radi provere povezanosti biomarkera sa KVB.

Dobijeni rezultati drugog ispitivanog indirektnog pokazatelja oksidativnog stresa-IMA nisu poredivi sa drugima s obzirom da je to relativno noviji marker koji je ispitivan u grupi bolesnika na hroničnom programu lečenja peritoneumskom dijalizom i hemodijalizom, ali ne i po stadijumima HBB tako da njegov značaj tek treba ispitati na većem broju bolesnika.<sup>229,230</sup>

Rezultat *CRIC* studije (*Chronic Renal Insufficiency Cohort Study*) koja je rađena u 13 kliničkih centara Sjedinjenih Američkih Država na 2466 bolesnika sa HBB potvrdila je povezanost pojedinih biomarkera AOB sa KV događajima tokom vremenskog perioda praćenja dužeg od pet godina pa su KIM-1 i NGAL bili povezani sa nastankom SS i aterosklerotskim KV bolestima.<sup>147</sup> Naši rezultati to nisu potvrdili, bilo da je to zbog neuporedivo manjeg broja uključenih bolesnika u studiju, kraćeg vremenskog perioda praćenja, neponavljanja merenja markera tokom praćenja ili nekog drugog razloga.

Dosta obećavajuću grupa markera predstavljaju i mikroRNK-a sa preko 2000 registrovanih molekula. Veliki broj njih ispitivan je kao potencijalni dijagnostički marker s obzirom na promenjenu ekspresiju njihovih molekula kod KV bolesti.<sup>158,163,164</sup> S obzirom na navedeno pokušali smo da ispitamo mikroRNK-133a kao jednu od najčešće pominjanih u istraživanju HBB i KV bolesti. Naši rezultati nisu ukazali na razliku mikroRNK-133a između grupe sa i bez KV događaja, ali je primećena korelacija mikroRNK sa parametrima koji su zapravo markeri uremijskih komplikacija (ukupni proteini, ureja, kalcijum, fosfor i hemoglobina) i ujedno KV faktora rizika (malnutricija, poremećaj metabolizma minerala, anemija). Prema našem saznanju, ovo istraživanje je ujedno prvo koje je ispitalo specifičnu mikroRNK-a po različitim stadijumima HBB te trenutno naši rezultati ne mogu da se porede sa drugim studijama, a primećena indirektna povezanost mikroRNK-133a sa KVB zaslužuje dalje ispitivanje.

Ukoliko bismo želeli da istaknemo nedostatke naše studije, to su navedene razlike između naših nalaza i literaturnih podataka najverovatnije posledica malog broja ispitanika, relativno kratkog vremenskog

perioda praćenje, izostanak serijskog merenja biomarkera, pa i uticaja većeg broja faktora po stadijumima HBB na dobijene vrednosti biomarkera.

Slično prethodnim subgrupama (sa i bez KV događaja), i u grupama bolesnika sa ili bez progresije HBB nije zapažena statistički značajna razlika u koncentracijama ispitivanih biomarkera. Navedeno je slabije istraživano, pa tako nije bilo ispitivanja IMA u progresiji HBB, kao ni istraživanja po pitanju specifične mikroRNK-133a. Raniji rezultati o oksidativnom stresu i SOD u HBB su diskutabilni i zahtevaju pažljivu interpretaciju i dalje istraživanje prema mnogobrojnim autorima.<sup>231</sup> Izuzetak od prethodno navedenog su rezultati koji se tiču markera AOB (NGAL i KIM-1) u HBB. Studija *Seibert i saradnika* uključila je 143 bolesnika sa stabilnom HBB čija je eventualna progresija praćena tokom 20 do 39 meseci uz određivanje ispitivanih biomarkera.<sup>232</sup> NGAL i KIM-1 u pomenutoj studiji nisu mogli da predvide promene u bubrežnoj funkciji tokom tri godine praćenja tako da se rezultati donekle podudaraju sa našim s obzirom da u našoj studiji nije primećena razlika u ispitivanim biomarkerima između bolesnika sa i bez progresije HBB. Za sada ostaje da su marker AOB veoma bitni u razlikovanju akutne od hronične slabosti bubrega dok buduće analize na većem broju bolesnika ne potvrde drugačije.

U okviru subpopulacija bolesnika formiranih na osnovu prisustva/odsusva HLK, zapaženo je da se jedino SOD pokazao kao marker koji je statistički značajno viši kod bolesnika sa HLK u odnosu na bolesnike bez HLK. Od ranije je poznato da povišeni oksidativni stres doprinosi nastanku kardijalne hipertrofije što je u skladu sa našim rezultatom koji navodi da bolesnici sa HBB i potvrđenom HLK imaju izraženiji oksidativni stres koji mi tumačimo kompenzatorno povišenom aktivnošću SOD u serumu bolesnika.<sup>233</sup> Ipak, radom Koksove regresione analize nismo potvrdili povezanost SOD sa nastankom KV događaja. IMA, drugi ispitivani biomarker oksidativnog stresa, nije značajnije istraživan po pitanju srčane hipertrofije tako da je neophodno dalje ispitivanje u ovoj grupi bolesnika radi provere našeg rezultata. Po pitanju drugih biomarkera, rezultati dve studije *Elmadbouly i Wen i saradnika* nisu u skladu sa našim rezultatima s obzirom da su autori primetili postojanje značajno nižeg nivoa mikroRNK-133a kod HD bolesnika sa potvrđenom HLK.<sup>163,164</sup> Ipak, ova razlika u rezultatima može se objasniti činjenicom da su njihova istraživanja uključila samo grupu HD bolesnika, a naša više stadijuma HBB sa mogućim delovanjem većeg broja faktora rizika po stadijumima bubrežne bolesti koji su mogli da utiču na dobijeni rezultat. Što se tiče markera AOB, studija *Young Kim i saradnika* koja je uključila 332 predijalizna bolesnika zaključila je da NGAL može biti prediktor HLK kod obolelih od HBB, što nije pokazano našom studijom.<sup>234</sup> Slična studija nije rađena po pitanju KIM-1 u grupi HBB bolesnika.

U cilju boljeg razumevanja koncentracije biomarkera, ispitivani su faktori rizika koji mogu uticati na njihovo stvaranje. Naša studija je pokazala povezanost pojedinih ispitivanih biomarkera sa tradicionalnim faktorima rizika. Bolesnici sa DM i HLP imali su niži serumski nivo mikroRNK-133a u odnosu na bolesnike bez navedenih bolesti. Primećeno je da su bolesnici bez HLP imali više vrednosti serumskog SOD u odnosu na bolesnike sa HLP, dok su muškarci imali niže vrednosti IL-18 i IMA u odnosu na žene.

Ekspresija pojedinih mikroRNK može biti izmenjena kod bolesnika sa dijabetesnom nefropatijom. Rezultati naše studije pokazali su niži nivo serumskog mikroRNK-133a kod bolesnika sa DM u poređenju sa bolesnicima bez DM. Naš nalaz je u skladu sa pojedinim ranijim studijama koje su proučavale nivo jedne druge mikroRNA, mikroRNK-30b-5p kod obolelih od dijabetesne nefropatije i čiji je nivo smanjen u ispitivanoj grupi bolesnika.<sup>235</sup> Ovaj rezultat verovatno može govoriti u prilog tome da smanjeni nivo serumskog mikroRNK-133a kod bolesnika sa DM može biti povezan sa stimulacijom bubrežne fibroze, ali i povećanog KV rizika kod obolelih sa DM.

Takođe, ispitan je i veći broj različitih mikroRNK po pitanju regulacije metabolizma lipida i njihove udruženosti sa dislipidemijama. Rezultati naše studije govore da je nivo serumskog mikroRNK-133a niži u bolesnika sa HLP što je u skladu sa nekim ranijim studijama gde se navodi smanjena ekspresija mikroRNK -191-3p, mikroRNK -933 i mikroRNK -425-3p.<sup>236</sup>

U pojedinim istraživanjima primećen je snažniji inflamatorni odgovor i porast markera inflamacije (poput CRP-a, sedimentacije eritrocita i neutrofila) u obolelih žena u odnosu na muškarce te navedeno obično omogućava brži oporavak žena.<sup>237</sup> Rezultati naše studije su u skladu sa ranije iznesenim stavom pa tako muškarci uključeni u studiju imaju niže vrednosti IL-18 i u odnosu na žene. Isto se odnosi i na IMA što je delimično u skladu sa rezultatima pojedinih studija gde se kaže da su muškarci starosti ispod 45 godina imali niže vrednosti IMA nego žene u reproduktivnom periodu života i menopauzi.<sup>238</sup>

Inflamacija, oksidativni stres i dislipidemija imaju bitnu interaktivnu ulogu u pogoršanju HBB.<sup>239</sup> Istraživanja kažu da je oksidativni stres jedan od prvih događaja koji prethodi nastanku hiperlipidemije i da primena mera u borbi protiv povišenog oksidativnog stresa može dovesti do sprečavanja nastanka poremećaja metabolizma lipida.<sup>240</sup> Rezultat naše studije poput zabeleženih viših vrednosti SOD kod obolelih bez HLP mogu se najverovatnije objasniti povišenom antioksidativnom aktivnošću pomenutog enzima u bolesnika sa HBB koji dovode do efikasnijeg metabolizma lipida i njegovih niže izmerenih vrednosti, premda se ni dejstvo terapije tj. statina ne može isključiti.

U ispitivanju faktora rizika za sintezu pojedinih biomarkera analizirali smo i standardnu primenjenu terapiju koju koriste bolesnici sa HBB. Naša studija ispitivala je uticaj lekova iz grupe ACE inhibitora, sartana, kalcijumskih antagonista, beta blokatora, statina, antiagreganasa i ASE na dobijene vrednosti ispitivanih biomarkera, a statistička značajnost je jedino utvrđena za lekove iz grupe ASE i beta blokatora. Tako su bolesnici koji su u svojoj hroničnoj terapiji imali neki od lekova iz grupe ASE imali niže vrednosti urinarnog NGAL-a i više vrednosti serumskog SOD u odnos na bolesnike bez ASE u terapiji.

Rezultat po pitanju niže vrednosti NGAL-a je u skladu sa nalazom *Emans* i saradnika sa zaključkom da kratkotrajno lečenje sa ASE potencijalno može dovesti do snižavanja vrednosti NGAL-a, što je možda odraz protektivnog efekta primenjene terapije na tubule bubrega.<sup>241</sup>

Pojedini animalni modeli i studije došle su do zaključka da sa primenom eritropoetina dolazi do korekcije anemije, ali i pogoršanja hipertenzije, glomeruloskleroze i nastanka inflamacije i pogoršanja oksidativnog stresa što delimično možda može da objasni povišene vrednosti SOD u bolesnika koji su imali ASE u redovnoj terapiji.<sup>242</sup> Treba reći da je ovaj rezultat najpre posledica toga što su lekovi iz grupe ASE većinom korišćeni kod HD bolesnika radi korekcije anemije bubrežnog porekla, uz moguću i pozitivan efekat primene ASE koja bi dovela do kompenzatorne produkcije SOD sa ciljem sprečavanja oksidativnog stresa u HBB.

Od značaja se pokazala i primena beta blokatora. Bolesnici koji su koristili beta blokatore u redovnoj terapiji imali su niže vrednosti IL-18 odnosno više vrednosti SOD u odnosu na grupu bolesnika bez beta blokatora u redovnoj terapiji.

Nalaz povišenog SOD kod bolesnika koji koriste beta blokatore jeste u skladu sa ranije pomenutim studijama gde se navodi da bisoprolol, metoprolol i karvedilol utiču na smanjenje oksidativnog stresa poput kod bolesnika sa SS.<sup>243</sup> Pojedini beta blokatori imaju i jasan antioksidativan efekat koji doprinosi smanjenju oštećenja u sklopu KV bolesti.<sup>244</sup> Beta blokatori imaju čak i antiinflamatorni efekat što je u studijama potvrđeno nižim vrednostima CRP-a kod bolesnika koji su ga imali u terapiji.<sup>245</sup> I naši

bolesnici sa beta blokatorom u terapiji imali su niže vrednosti markera inflamacije, u ovom slučaju IL-18.

Naredno ispitivanje uključilo je korelaciju ispitivanih biomarkera sa standardnim laboratorijskim analizama i ehosonografskim parametrima. Naime, u rezultatima naše studije uočena je povezanost ispitivanih biomarkera sa pojedinim laboratorijskim analizama i ehokardiosonografskim parametrima, da bi time bila uočena njihova verovatna direktna ili indirektna povezanost sa pokazateljima HBB i nastalim komplikacijama specifičnim za uremiju (anemija, poremećaj metabolizma minerala, malnutricija, inflamacija, hipertrofija leve komore). Veći broj ranijih studija bavio se ispitivanjem i korelacijom ispitivanih biomarkera sa standardnim surogatnim markerima napredovanja HBB i njenim komplikacijama.

SOD je pozitivno korelirala sa dobijenim vrednostima kreatinina, ureje, fosfora, feritina, i saturacijom gvožđa tako da sa povećanjem vrednosti navedenih biohemijskih parametara dolazi do porasta serumskog SOD i obrnuto. Kako su navedene analize zapravo surogat stepena oštećenja bubrežne funkcije, navedeno je u skladu sa ranije iznetim našim rezultatom gde sa napredovanjem HBB dolazi do nastanka izraženijeg oksidativnog stresa, a samim tim i povećane kompenzatorne aktivnosti SOD.

Sa druge strane, SOD negativno korelira sa dobijenim vrednostima albumina, kalcijuma, hemoglobina, JGF i KIM-1 tako da sa padom u vrednostima navedenih parametara dolazi do povećanja vrednosti SOD i obrnuto. Navedeni rezultat može biti indirektan pokazatelj povezanosti SOD sa komplikacijama HBB, misleći na malnutriciju (snižene vrednosti albumina), anemiju (niže vrednosti hemoglobina) i hipokalcijemiju. To je u skladu sa inverznom korelacijom između SOD i JGF i KIM-1 jer sa padom JGF dolazi do rasta serumskog SOD, dok napredovanjem HBB dolazi do rasta SOD i sve manje produkcije KIM-1 što je najverovatnije posledica fibroze bubrega koja je praćena gubitkom proksimalnih tubulocita.

Od svih ispitivanih ehokardiosonografskih parametara jedino je potvrđena pozitivna korelacija između SOD i debljine ZZLK pa sa porastom markera oksidativnog stresa raste i debljina zadnjeg zida. Dobro je poznato da povišen oksidativni stres doprinosi nastanku HLK u obolelih od HBB što objašnjava dobijeni rezultat, imajući u vidu da je HLK praćena povećanjem debljine ZZLK u uslovima povišenog oksidativnog stresa i rasta SOD.<sup>233</sup>

Na kraju treba napomenuti pozitivnu korelaciju IMA sa trigliceridima i mokraćnom kiselinom, kao i negativnu sa vrednostima troponina.

Uočena je pozitivna korelacija IL-18 sa CRP i IMA pa sa povećanjem vrednosti IL-18 dolazi i do porasta vrednosti CRP-a. To je i očekivan nalaz s obzirom da se radi o inflamatornim markerima.

Dobijene vrednosti urinarnog NGAL-a negativno koreliraju sa vrednostima ureje, kreatinina, fosfora i Tnl-Ultra Troponina tako da je porast prethodno navedenih parametara povezana sa padom nivoa NGAL i obrnuto. Navedeno se može objasniti time da sa napredovanjem HBB dolazi do fibroze bubrežnog tkiva i gubitka tubulocita koji su glavni izvor produkcije NGAL, a sa daljim napretkom fibroze dolazi do porasta azotnih materija, hiperfosfatemije i porasta troponina usled njenog smanjenog klirensa. Takođe, NGAL pozitivno korelira sa vrednostima hemoglobina, ukupnih proteina i JGF, pa sa porastom navedenih parametara rastu i vrednosti urinarnog NGAL-a. U suprotnosti sa našim rezultatom ranije je potvrđena pozitivna korelacija NGAL sa kreatininom što opet može biti kompenzatorni, protektivni odgovor bubrega sa većom produkcijom i oslobađanjem ovog tubulocitnog markera.<sup>246</sup>

Iz naših rezultata se vidi da serumski KIM-1 negativno korelira sa vrednostima ureje, što znači da sa padom u vrednosti KIM-1 dolazi do povećanja ureje. Ovo je i očekivano ako znamo da sa napredovanjem bubrežne fibroze i HBB i gubitkom proksimalnih tubulocita dolazi do porasta vrednosti ureje koji je praćena padom u serumskom KIM-1 što smo već ranije opisali. Sa porastom vrednosti IMLK dolazi do snižavanja serumskog KIM-1 jer sa daljim pogoršanjem HBB dolazi do smanjene produkcije ispitivanog biomarkera i sve veće pojave HLK koja se, između ostalog, manifestuje povećanjem IMLK.

Prethodno navedeni rezultati korelacije markera akutnog oštećenja bubrega (NGAL, KIM-1) sa standardnim markerima oštećenja bubrežne funkcije verovatno mogu govoriti u prilog mogućnosti njihove primene u dijagnostici HBB i njenim nastalim komplikacijama. Istovremeno, svaka novootkrivena bubrežna slabost nepoznatog uzroka vodi dilemi da li se radi o akutnom ili hroničnom oštećenju pa povišene vrednosti ovog biomarkera ukazuju pre na AOB.<sup>247</sup>

Na kraju treba napomenuti i negativnu korelaciju NGAL sa ehokardiosonografskim parametrom debljinom ZZLK. Ovaj nalaz je samo odraz prethodno rečenog: sa napredovanjem HBB imamo sve manju produkciju NGAL, a sa višim stadijumom HBB imamo veću prevalencu HLK koja je između ostalog praćena povećanjem debljine ZZLK.

Ispitivana je i korelacija vrednosti serumskog mikroRNK-133a i vrednosti ukupnih proteina, ureje, kalcijuma, fosfora i hemoglobina. Pored azotnih materija (ureja i kreatinin), sa progresijom HBB suočeni smo i sa pojavom anemije i različitih metaboličkih poremećaja poput malnutricije, hipokalcijemije i hiperfosfatemije, a ove komplikacije postaju sve izraženije sa pogoršanjem bubrežne funkcije. Više vrednosti ukupnih proteina, kalcijuma i hemoglobina povezane su sa nižim nivoima mikroRNK-133a i obrnuto. Sa druge strane, porast fosfora i ureje prati porast nivoa miR-133a. Iz navedenog se vidi da se nivo mikroRNK-133a povećava ne samo smanjenjem nivoa JGF, tj. sa progresijom HBB, već i sa surogatnim markerima smanjenja bubrežne funkcije. Takođe, nalaz korelacije ukazuje na indirektnu povezanost mikroRNK-133a sa uremijom i određenim KV netradicionalnim faktorima rizika koji su posledica uremije, poput anemije, malnutricije i poremećaja metabolizma minerala. Povezanost mikroRNK-133a sa ovim parametrima takođe može biti mehanizam kojim povišene vrednosti mikroRNK-133a doprinose nepovoljnom ishodu kod pacijenata sa uznapredovalom HBB. Iako je veliki broj mikroRNK-a ispitivan po pitanju povezanosti sa daljim napredovanjem HBB, a pogotovu u sklopu dijabetesne nefropatije, lupus nefritisa i raznih glomerulonefritisa (regulacija mezangijumske proliferacije, apoptoze podocita, fibroze bubrega), mikroRNK-133a kao specifičan biomarker nije ranije ispitivan po različitim stadijumima HBB. Takođe, mikroRNK-133a nije ranije koreliran sa parametrima koji mogu biti pokazatelji komplikacija HBB te poređenje naših sa ranijim rezultatima nije moguće.

Preživljavanje bolesnika je praćeno tokom 18 meseci. Posle 18 meseci od ukupnog broja bolesnika sa HBB uključenih u studiju preminulo je 13,8%. Smrtni ishodi bili su posledica kardiovaskularnih i nekardiovaskularnih oboljenja. Grupa preminulih bolesnika imala je niže vrednosti hemoglobina, odnosno više izmerene vrednosti iPTH, feritina, ureje i SOD u odnosu na grupu preživelih bolesnika.

Međutim, od svih navedenih parametara primenom Koksove regresione analize jedino se hemoglobin pokazao kao faktor povezan sa nastankom smrtnog ishoda kod obolelih od HBB; sa svakom jedinicom povećanja hemoglobina za 1g/dl krvi dolazi do smanjenja verovatnoće nastanka smrtnog ishoda za 79%. Već je više puta napomenuta važnost anemije kao netradicionalnog faktora rizika koji doprinosi napredovanju HBB, nastanku srčane hipertrofije, a zatim i nastanku i pogoršanju ishemijske bolesti srca i SS. *Culleton* i saradnici u svojoj studiji koja je uključila 17.030 osoba starosti preko 66 godina i

praćenjem u trajanju od tri godine došli su do zaključka da je anemija faktor rizika povezan sa povećanim brojem hospitalizacija i povećanim mortalitetom u gerijatrijskoj populaciji.<sup>248</sup> Iako neuporedivo manjeg broja ispitanika, rezultat naše studije po pitanju anemije i mortaliteta u skladu je sa zaključkom *Culleton* i saradnika. Naime, prosečna starost preminulih uključenih u našu studiju je 69 godina što obolele svrstava u gerijatrijsku populaciju.

Iako je uočena značajnost po pitanju PTH, feritina, ureje i SOD, navedeni parametri nisu se pokazali kao faktori koji su povezani sa nastankom smrtnog ishoda iako su zapravo markeri koji su prepoznati kao faktori rizika za obolevanje i smrtni ishod: PTH (poremećaj mineralnog metabolizma sa nastankom SHPT), feritin (inflamacija), ureja (HBB) i SOD (oksidativni stres).

Nažalost, ni jedan ispitivani biomarker nije se pokazao kao nezavisni prediktor preživljavanja bolesnika. Kako se radi o kardiospecifičnim markerima, njihov uticaj bi možda bio relevantniji ako bi se u obzir uzeli samo bolesnici sa KV smrtnim ishodom. Kako je taj broj u našoj populaciji mali, to smo analizirali ukupnu smrtnost i rezultat je bio negativan. Naši rezultati nisu u saglasnosti sa ranijim istraživanjima poput onih koji govore da je IL-18 prediktor loše prognoze i preživljavanja hemodijaliznih bolesnika i da je povezan sa opštim mortalitetom koji je nezavisan od srčane disfunkcije.<sup>249</sup> Takođe, nisu u saglasnosti ni u vezi sa SOD kao mogućeg prediktivnog biomarkera nastanka nepovoljnih ishoda kod bolesnika sa srčanom slabosti.<sup>250</sup> Nije pokazano ni da su KIM-1 i NGAL povezani sa SS, KV bolestima koji u osnovi imaju aterosklerozi i sa smrtnim ishodom kao u drugih autora.<sup>251</sup> IMA, prediktor lošeg KV ishoda kod bolesnika sa mogućim akutnim koronarnim sindromom nije dokazan našim rezultatima.<sup>252</sup> Po pitanju specifične mikroRNK-133a do sada nije rađena ozbiljnija studija koja bi se bavila ispitivanjem njene povezanosti sa preživljavanjem bolesnika. Prethodno pomenuta istraživanja obično su uključivala veću populacionu grupu ispitanika sa dužim vremenskim periodima praćenja i serijskim ponavljanjima analiza, te samim tim radi pouzdanije analize, potrebno je u studiju uključiti veći broj ispitanika sa dužim vremenom praćenja i serijskim, češćim ponavljanjima biomarkera.



## 6. Zaključci

1. Bolesnici sa novonastalom KVB imali su:
  - a. na početku niže vrednosti hemoglobina i albumina, odnosno povišene vrednosti Tnl-Ultra Troponina, feritina i ureje u odnosu na bolesnike bez KVB;
  - b. više vrednosti MLK, IMLK, LP, E/e odnosa, ZZLK, IVS kao i nižu vrednost E/A odnosa u odnosu na bolesnike bez KVB, da bi se posle godinu dana održala razlika sa višim vrednostima MLK, IMLK, E/e odnos, ZZLK i IVS kod bolesnika sa KV događajima.
2. Značajni prediktori KVB bili su primena antagonista kalcijuma, agenasa stimulacije eritropoeze, vrednost albumina, ureje i veličina IVS.
3. Bolesnici sa HLK na početku studije imali su niže vrednosti hemoglobina i više vrednosti fosfora u odnosu na bolesnike bez HLK.
4. Bolesnici sa progresijom slabosti bubrega imali su inicijalno niže vrednosti kalcijuma i albumina, odnosno više vrednosti iPTH u odnosu na bolesnike bez progresije bubrežne slabosti. PTH se pokazao kao jedini značajni faktor rizika povezan sa napredovanjem bubrežne bolesti.
5. Napredovanjem hronične bubrežne bolesti zapaža se pad u vrednosti KIM-1, NGAL-a, i porast vrednosti SOD kao i povišena ekspresija mikroRNK-133a dok se ne registruju promene u vrednostima IL-18 i IMA.
6. Ispitivanjem faktora rizika za pojedine vrednosti serumskih biomarkera zapaženo je:
  - a. vrednost mikroRNK-133a značajno je snižena uz prisustvo dijabetes melitusa i hiperlipoproteinemije nezavisno od stadijuma HBB;
  - b. vrednost SOD je značajno snižena uz prisustvo HLP nezavisno od stadijuma HBB;
  - c. vrednost IL-18 i IMA su značajno snižene u osoba muškog pola u odnosu na osobe ženskog pola;
  - d. beta blokatori su značajno povećavali vrednost SOD a snižavali vrednost IL-18;
  - e. agensi stimulacije eritropoeze su značajno povećavali vrednost SOD i smanjivali vrednost NGAL-a.
7. Zapažena je značajna korelacija:
  - a. SOD: pozitivna sa kreatininom, urejom, feritinom, saturacijom gvožđa i fosforom, a negativna sa KIM-1, JGF, albuminom, kalcijumom, hemoglobinom i ZZLK;
  - b. NGAL: pozitivna sa JGF, hemoglobinom, ukupnim proteinima, a negativna sa kreatininom, urejom, Tnl-Ultra Troponinom, fosforom i ZZLK;
  - c. IMA: pozitivna sa IL-18, trigliceridima, mokraćnom kiselinom i negativna sa Tnl-Ultra Troponinom;
  - d. IL-18: pozitivna sa IMA i CRP-om;
  - e. KIM-1: negativna sa SOD, urejom i IMLK;
  - f. MikroRNA-133a: pozitivna sa fosforom i urejom i negativna sa hemoglobinom, kalcijumom i ukupnim proteinima.
8. Ispitivani biomarkeri su bili bez značajnog uticaja na nastanak kardiovaskularnih događaja i na napredovanje HBB.

9. SOD se pokazala značajnim markerom u nastanku HLK.
10. Preživljavanje bolesnika tokom 18 meseci praćenja bilo je povezano sa vrednostima hemoglobina, iPTH, feritina, ureje i SOD. Primenom Koksove regresione analize, samo se vrednost hemoglobina pokazala kao značajan prediktor smrtnog ishoda.
11. Uloga biomarkera u progresiji i ishodu kako bubrežne tako i kardiovaskularne bolesti i dalje zahteva istraživanje velike serije bolesnika u dužem vremenskom periodu praćenja.

## 7. Literatura

1. Bikbov B, Purcell CA, Levey AS, Smith M, Abdoli A, Abebe M, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2020;395:709-33.
2. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351:1296–1305.
3. Di Lullo L, Gorini A, Russo D, Santoboni A, Ronco C. Left Ventricular Hypertrophy in Chronic Kidney Disease Patients: From Pathophysiology to Treatment. *Cardiorenal Med*. 2015;5:254-66.
4. Heywood JT, Fonarow GC, Costanzo MR, Mathur VS, Wigneswaran JR, Wynne J. ADHERE Scientific Advisory Committee and Investigators High prevalence of renal dysfunction and its impact on outcome in 118,465 patients hospitalized with acute decompensated heart failure: a report from the ADHERE database. *J Card Fail*. 2007;13:422–30.
5. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998; 32(5 Suppl 3):112–9.
6. Johnson DW, Craven AM, Isbel NM. Modification of cardiovascular risk in hemodialysis patients: An evidence-based review. *Hemodial Int*. 2007; 11:1–14.
7. Segall L, Nistor I, Covic A. Heart Failure in Patients with Chronic Kidney Disease: A Systematic Integrative Review. *Biomed Res. Int*. 2014; vol. 2014, Article ID 937398, 21 pages.
8. Collins AJ, Foley RN, Herzog C, Chavers B, Gilbertson D, Ishani A, et al. US Renal Data System 2012 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis*. 2013;61:1–476.
9. Sarnak MJ, Amann K, Bangalore S, Cavalcante JL, Charytan DM, Craig JC, et al. Chronic Kidney Disease and Coronary Artery Disease. *JACC*. 2019;2019:1823–38.
10. Yahalom G, Kivity S, Segev S, Sidi Y, Kurnik D. Estimated glomerular filtration rate in a population with normal to mildly reduced renal function as predictor of cardiovascular disease. *Eur J Prev Cardiol*. 2014; 21(8):941-8.
11. Dad T, Weiner DE. Stroke and Chronic Kidney Disease: Epidemiology, Pathogenesis, and Management Across Kidney Disease Stages. *Semin Nephrol*. 2015;35(4):311–22.
12. Lee M, Saver JL, Chang KH, Liao HW, Chang SC, Ovbiagele B. Low glomerular filtration rate and risk of stroke: meta-analysis. *BMJ*. 2010;341:c4249.
13. Wang HH, Hung SY, Sung JM, Hung KY, Wang JD. Risk of stroke in long-term dialysis patients compared with the general population. *Am J Kidney Dis*. 2014;63:604–11.
14. Taddei S, Nami R, Bruno RM, Quatrini I, Nuti R. Hypertension, left ventricular hypertrophy and chronic kidney disease. *Heart Failure Reviews*. 2010; 16(6):615–20.
15. Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, Manolio TA, Peterson D, Stehman-Breen C, et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA*. 2005;293(14):1737–45.

16. London GM. Cardiovascular disease in chronic renal failure: pathophysiologic aspects. *Semin Dial.* 2003;16(2):85–94.
17. Levin A, Thompson CR, Ethier J, Carlisle EJ, Tobe S, Mendelssohn D, et al. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *Am J Kidney Dis.* 1999; 34(1):125–34.
18. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Martin CJ, Murray DC, et al. Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int.* 1995; 47(1):186–92.
19. Middleton RJ, Parfrey PS, Foley RN. Left ventricular hypertrophy in the renal patient. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12(5):1079–84.
20. Kottgen A, Russell SD, Loehr LR, Crainiceanu CM, Rosamond WD, Chang PP, et al. Reduced kidney function as a risk factor for incident heart failure: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(4):1307–15.
21. Hillege HL, Nitsch D, Pfeffer MA, Swedberg K, McMurray J, Yusuf S, et al. Renal function as a predictor of outcome in a broad spectrum of patients with heart failure. *Circulation.* 2006;113:671-8.
22. Smith DH, Thorp ML, Gurwitz JH, McManus DD, Goldberg RJ, Allen LA, et al. Chronic kidney disease and outcomes in heart failure with preserved versus reduced ejection fraction: the Cardiovascular Research Network PRESERVE Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2013;6(3):333–42.
23. Löfman I, Szummer K, Dahlström U, Jernberg T, Lund LH. Associations with and prognostic impact of chronic kidney disease in heart failure with preserved, mid-range, and reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail.* 2017;19(12):1606–14.
24. United States Renal Data System Annual Data Report 2016: Chapter 9: cardiovascular disease in patients with ESRD. [https://www.usrds.org/media/1621/v2\\_c09\\_cvd\\_16.pdf](https://www.usrds.org/media/1621/v2_c09_cvd_16.pdf). Date accessed: April 7, 2019.
25. Liew YP, Bartholomew JR, Demirjian S, Michaels J, Schreiber MJ. Combined effect of chronic kidney disease and peripheral arterial disease on all-cause mortality in a high-risk population. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(4):1084–9.
26. O'Hare AM, Glidden DV, Fox CS, Hsu CY. High prevalence of peripheral arterial disease in persons with renal insufficiency: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Circulation.* 2004;109(3):320–3.
27. Whitman IR, Feldman HI, Deo R. CKD and sudden cardiac death: epidemiology, mechanisms, and therapeutic approaches. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(12):1929–39.
28. Pickup LC, Law JP, Townend JN, Ferro CJ. Sudden cardiac death in chronic renal disease: aetiology and risk reduction strategies. *Nephrol Dial Transplant.* 2021;36(8):1386–8.
29. United States Renal Data System. *USRDS 2006 Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States.* 2006. Bethesda, MD, National Institutes of Health; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.

30. Doan QV, Gleeson M, Kim J, Borker R, Griffiths R, Dubois RW. Economic burden of cardiovascular events and fractures among patients with end-stage renal disease. *Curr Med Res Opin.* 2007;23(7):1561–9.
31. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J 3rd. Factors of risk in the development of coronary heart disease-six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med.* 1961;55:33–50.
32. Vlagopoulos PT, Sarnak MJ. Traditional and nontraditional cardiovascular risk factors in chronic kidney disease. *Med Clin North Am.* 2005;89:587–611.
33. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Traditional and emerging cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl.* 2003;(85):S105–10.
34. Fox CS, Larson MG, Leip EP, Culleton B, Wilson PW, Levy D. Predictors of new-onset kidney disease in a community-based population. *JAMA.* 2004;291(7):844–50.
35. Brancati FL, Whelton PK, Randall BL, Neaton JD, Stamler J, Klag MJ. Risk of end-stage renal disease in diabetes mellitus: a prospective cohort study of men screened for MRFIT. Multiple Risk Factor Intervention Trial. *JAMA.* 1997;278(23):2069–74.
36. Ninomiya T, Perkovic V, de Galan BE, Zoungas S, Pillai A, Jardine M, et al; ADVANCE Collaborative Group. Albuminuria and kidney function independently predict cardiovascular and renal outcomes in diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(8):1813–21.
37. Groop PH, Thomas MC, Moran JL, Wadèn J, Thorn LM, Mäkinen VP, et al; FinnDiane Study Group. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes.* 2009;58(7):1651–8.
38. Orchard TJ, Secrest AM, Miller RG, Costacou T. In the absence of renal disease, 20 year mortality risk in type 1 diabetes is comparable to that of the general population: a report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia.* 2010;53(11):2312–9.
39. Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, Hirsch IB, Tuttle KR, Himmelfarb J, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(2):302–8.
40. Beckman JA, Libby P, Creager MA. Diabetes Mellitus, the Metabolic Syndrome, and Atherosclerotic Vasculare Disease. In: Braunwald's Heart Disease. Libby P, Bonow RO, Mann Douglas L, Zipes DP, Braunwald E. (eds). Philadelphia: Saunders Elsevier. 2008;1093–155.
41. Baber U, Bander J, Karajgikar R, Yadav K, Hadi A, Theodoropolous K, et al. Combined and independent impact of diabetes mellitus and chronic kidney disease on residual platelet reactivity. *Thromb Haemost.* 2013;110(1):118–23.
42. Kestenbaum B, Rudser KD, de Boer IH, Peralta CA, Fried LF, Shlipak MG, et al. Differences in kidney function and incident hypertension: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Ann Intern Med.* 2008;148(7):501–8.
43. Muntner P, Anderson A, Charleston J, Chen Z, Ford V, Makos G, et al; Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study Investigators. Hypertension awareness, treatment, and control in adults with CKD: results from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Am J Kidney Dis.* 2010;55(3):441–51.

44. Stevens PE, Levin A; Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline. *Ann Intern Med.* 2013;158(11):825–30.
45. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(13):1318–27.
46. Lim SS, Vos T, Flaxman AD. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380(9859):2224–60.
47. Yamagata K, Ishida K, Sairenchi T. Risk factors for chronic kidney disease in a community-based population: a 10-year follow-up study. *Kidney Int.* 2007;71(2):159–66.
48. Foley RN, Herzog CA, Collins AJ. Smoking and cardiovascular outcomes in dialysis patients: the United States Renal Data System Wave 2 Study. *Kidney Int.* 2003;63(4):1462–7.
49. Staplin N, Haynes R, Herrington WG, Reith C, Cass A, Fellström B, et al. Smoking and Adverse Outcomes in Patients With CKD: The Study of Heart and Renal Protection (SHARP). *Am. J. Kidney Dis.* 2016; 68(3):371–80.
50. H.R Black. Smoking and cardiovascular disease. J.H Laragh, B.M Brenner (Eds.), *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management* (2nd edition), Raven Press Ltd, New York, NY (1995), pp. 2621–47.
51. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(10):1731–7.
52. Wanner C, Krane V, Metzger T. Lipid changes and statins in chronic renal insufficiency and dialysis. *J Nephrol.* 2001;14 (4):76–80.
53. Vaziri ND, Moradi H. Mechanismus of Dyslipidemia of chronic renal failure. *Hemodialysis Int.* 2006;10 (1):1–7.
54. Dejan Petrović, *Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika na hemodijalizi: monografija*, Kragujevac 2012, 39.
55. Dejan Petrović, *Hronična bolest bubrega u kliničkoj praksi: monografija*, Kragujevac 2014, 236.
56. Zhang Y, Ma KL, Ruan XZ, Liu BC. Dysregulation of the Low-Density Lipoprotein Receptor Pathway Is Involved in Lipid Disorder-Mediated Organ Injury. *Int J Biol Sci.* 2016;12(5):569–79.
57. Di Giosia P, Passacquale G, Petrarca M, Giorgini P, Marra AM, Ferro A. Gender differences in cardiovascular prophylaxis: Focus on antiplatelet treatment. *Pharmacol Res.* 2017;119:36–47.
58. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR); ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J.* 2012;33(13):1635–701.

59. Appelros P, Stegmayr B, Terént A. Sex differences in stroke epidemiology: a systematic review. *Stroke*. 2009;40(4):1082–90.
60. Petrea RE, Beiser AS, Seshadri S, Kelly-Hayes M, Kase CS, Wolf PA. Gender differences in stroke incidence and poststroke disability in the Framingham heart study. *Stroke*. 2009;40(4):1032–7.
61. Katz DJ, Stanley JC, Zelenock GB. Gender differences in abdominal aortic aneurysm prevalence, treatment, and outcome. *J Vasc Surg*. 1997;25(3):561–8.
62. Skibba AA, Evans JR, Hopkins SP, Yoon HR, Katras T, Kalbfleisch JH, et al. Reconsidering gender relative to risk of rupture in the contemporary management of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2015;62(6):1429–36.
63. Members WG, Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update: a report from the American heart association. *Circulation*. 2016;133(4):e38–360.
64. Gao Z, Chen Z, Sun A, Deng X. Gender differences in cardiovascular disease. *Medicine in Novel Technology and Devices*. 2019;100025.
65. Locorotondo G, Galiuto L. Gender differences in cardiovascular disease. *J Integr Cardiol*. 2015;1(1):20–2.
66. Carrero JJ. Gender differences in chronic kidney disease: underpinnings and therapeutic implications. *Kidney Blood Press Res*. 2010;33(5):383–92.
67. Yang W, Xie D, Anderson AH, Joffe MM, Greene T, Teal V, et al; CRIC Study Investigators. Association of kidney disease outcomes with risk factors for CKD: findings from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) study. *Am J Kidney Dis*. 2014;63(2):236–43.
68. Sniderman AD, Furberg CD. Age as a modifiable risk factor for cardiovascular disease. *Lancet*. 2008;371:1547–9.
69. Dhingra R, Vasan RS. Age as a risk factor. *Med Clin North Am*. 2012;96(1):87–91.
70. Costa E, Santos-Silva A, Paúl C, González Gallego J. Aging and Cardiovascular Risk. *BioMed Research International*. 2015; Article ID 871656. doi.org/10.1155/2015/871656.
71. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA*. 2007;298(17):2038–47.
72. Prakash S, O'Hare AM. Interaction of Aging and Chronic Kidney Disease. *Semin Nephrol*. 2009;29(5):497–503.
73. Weiner DE, Tighiouart H, Elsayed EF, Griffith JL, Salem DN, Levey AS, et al. Inflammation and cardiovascular events in individuals with and without chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2008;73(12):1406–12.
74. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2004;65(3):1009–16.
75. D. Petrović, Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika na hemodijalizi: monografija, Kragujevac 2012,107.

76. Galle J, Seibold S, Wanner C. Inflammation in Uremic Patients: What Is the Link? *Kidney Blood Press Res* 2003;26:65–75.
77. Mihai S, Codrici E, Popescu ID, Enciu AM, Albulescu L, Necula LG, et al. Inflammation-Related Mechanisms in Chronic Kidney Disease Prediction, Progression, and Outcome. *J Immunol Res*. 2018;2018:2180373.
78. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(7):1272–80.
79. Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial*. 2001;14(3):193–9.
80. Zalba G, Fortuño A, Díez J. Oxidative stress and atherosclerosis in early chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(10):2686–90.
81. D. Petrović, *Hronična bolest bubrega u kliničkoj praksi: monografija*, Kragujevac 2014, 304.
82. D. Petrović, *Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika na hemodijalizi: monografija*, Kragujevac 2012, 95.
83. Rossert JA, McClellan WM, Roger SD, Verbeelen DL, Hörl WH. Contribution of anaemia to progression of renal disease: a debate. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(1):60–6.
84. Levin A. Anemia and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease populations: A review of the current state of knowledge. *Kidney Inter*. 2002;61:S35–S38.
85. Parfrey PS. Cardiac disease in dialysis patients: diagnosis, burden of disease, prognosis, risk factors and management. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(5):56–68.
86. Foley RN, Herzog CA, Collins AJ. Blood pressure and long-term mortality in United States hemodialysis patients: USRDS Waves 3 and 4 Study. *Kidney Int*. 2002;62(5):1784–90.
87. McCullough PA, Chan CT, Weinhandl ED, Burkart JM, Bakris GL. Intensive Hemodialysis, Left Ventricular Hypertrophy, and cardiovascular disease. *Am J Kidney Dis*. 2016;68(5S1):S5–S14.
88. Stenvinkel P. Malnutrition and chronic inflammation as risk factors for cardiovascular disease in chronic renal failure. *Blood Purif*. 2001;19(2):143–51.
89. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Lindholm B, et al. Factors influencing malnutrition in hemodialysis patients. A cross-sectional study. *Kidney Int*. 1998;53:773–82.
90. Bergstrom J, Lindholm B. Nutrition and adequacy of dialysis. How do hemodialysis and CAPD compare? *Kidney Int*. 1993;34:S39–S50.
91. Stenvinkel P, Heimbürger O, Lindholm B, Kaysen GA, Bergstrom J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15:953–60.
92. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome – the heart of the matter. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(11):28– 31.



93. Cannata-Andía JB, Carrera F. The Pathophysiology of Secondary Hyperparathyroidism and the Consequences of Uncontrolled Mineral Metabolism in Chronic Kidney Disease: The Role of COSMOS. *NDT Plus*. 2008;1(1):i2-i6.
94. Achinger SG, Ayus JC. Left ventricular hypertrophy: is hyperphosphatemia among dialysis patients a risk factor? *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(12-3):S255–61.
95. Pateinakis P, Papagianni A. Cardiorenal syndrome type 4-cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease: epidemiology, pathogenesis, and management. *Int J Nephrol*. 2011;2011:938651.
96. Eckardt KU, Coresh J, Devuyst O, Johnson RJ, Köttgen A, Levey AS, et al. Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden. *Lancet*. 2013;382(9887):158–69.
97. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. Lancet*. 2010;375(9731):2073–81.
98. Matsushita K, Ballew SH, Coresh J. Cardiovascular risk prediction in people with chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2016;25(6):518–23.
99. Lutsey PL, Alonso A, Michos ED, Loehr LR, Astor BC, Coresh J, et al. Serum magnesium, phosphorus, and calcium are associated with risk of incident heart failure: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Clin Nutr*. 2014;100(3):756-64.
100. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis*. 1998;31:607–617.
101. van der Leeuw J, Beulens JWJ, van Dieren S, Schalkwijk CG, Glatz JFC, Hofker MH, et al. Novel biomarkers to improve the prediction of cardiovascular event risk in type 2 diabetes mellitus. *J Am Heart Assoc*. 2016;5:e003048.
102. Yeap BB, Chubb S AP, Flicker L, McCaul KA, Ebeling PR, Hankey GJ, et al. Associations of total osteocalcin with all-cause and cardiovascular mortality in older men. *The Health In Men Study. Osteoporosis Int*. 2011;23(2):599–606.
103. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, Gutiérrez OM, Scialla J, Xie H, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370–8.
104. Scialla JJ, Xie H, Rahman M, Anderson AH, Isakova T, Ojo A, et al; Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study Investigators. Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular events in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(2):349–60.
105. Bäck M, Aranyi T, Cancela ML, Carracedo M, Conceição N, Leftheriotis G, et al. Endogenous Calcification Inhibitors in the Prevention of Vascular Calcification: A Consensus Statement From the COST Action EuroSoftCalcNet. *Front Cardiovasc Med*. 2019;5:196.

106. Dimkovic N, Schlieper G, Jankovic A, Djuric Z, Ketteler M, Damjanovic T, et al. Prognostic value of cardiovascular calcifications in hemodialysis patients: a longitudinal study. *Int Urol Nephrol*. 2018;50(5):939–46.
107. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet*. 2003;361(9360):827–33.
108. Navarro-González JF, Donate-Correa J, Muros de Fuentes M, Pérez-Hernández H, Martínez-Sanz R, Mora-Fernández C. Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Heart*. 2014;100(1):34–40.
109. Demir P, Erdenen F, Aral H, Emre T, Kose S, Altunoglu E, et al. Serum Osteoprotegerin Levels Related With Cardiovascular Risk Factors in Chronic Kidney Disease. *J Clin Lab Anal*. 2016;30(6): 811–7.
110. D’Marco L, Bellasi A, Raggi P. Cardiovascular Biomarkers in Chronic Kidney Disease: State of Current Research and Clinical Applicability. *Dis Markers*. 2015;2015:586569. doi: 10.1155/2015/586569.
111. Khan NA, Hemmelgarn BR, Tonelli M, Thompson CR, Levin A. Prognostic value of troponin T and I among asymptomatic patients with end-stage renal disease: a meta-analysis. *Circ*. 2005;112(20):3088-96.
112. Michos ED, Wilson LM, Yeh HC, Berger Z, Suarez-Cuervo C, Stacy SR, et al. Prognostic Value of Cardiac Troponin in Patients With Chronic Kidney Disease Without Suspected Acute Coronary Syndrome. *Ann Intern Med*. 2014;161(7):491–501.
113. Apple FS, Murakami MM, Pearce LA, Herzog CA. Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. *Clin Chem*. 2004;50(12):2279–85.
114. Wang AY, Lam CW, Yu CM, Wang M, Chan IH, Zhang Y, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide: an independent risk predictor of cardiovascular congestion, mortality, and adverse cardiovascular outcomes in chronic peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(1):321–30.
115. Niizuma S, Iwanaga Y, Yahata T, Miyazaki S. Renocardiovascular Biomarkers: from the Perspective of Managing Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2017;4:10.
116. Skampardoni S, Poulidakos D, Malik M, Green D, Kalra PA. The potential of electrocardiography for cardiac risk prediction in chronic and end-stage kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(7):1089–98.
117. Han SS, Cho GY, Park YS, Baek SH, Ahn SY, Kim S, et al. Predictive Value of Echocardiographic Parameters for Clinical Events in Patients Starting Hemodialysis. *J Korean Med Sci*. 2015;30(1),44.
118. Liu YW, Su CT, Song EJ, Tsai WC, Li YH, Tsai LM, et al. The role of echocardiographic study in patients with chronic kidney disease. *J Formos Med Assoc*. 2015;114(9):797–805.

119. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014;129(25 Suppl 2):S1–45.
120. Matsushita K, Sang Y, Ballew SH, Shlipak M, Katz R, Rosas SE, et al. Subclinical atherosclerosis measures for cardiovascular prediction in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(2):439–47.
121. van der Bijl N, Joemai RM, Geleijns J, Bax JJ, Schuijf JD, de Roos A, et al. Assessment of Agatston coronary artery calcium score using contrast-enhanced CT coronary angiography. *AJR Am J Roentgenol*. 2010;195(6):1299–305.
122. Arad Y, Spadaro LA, Goodman K, Newstein D, Guerci AD. Prediction of coronary events with electron beam computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(4):1253–60.
123. Adragao T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Goncalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(6):1480–8.
124. Chen HC, Wang WT, Hsi CN, Chou CY, Lin HJ, Huang CC, et al. Abdominal aortic calcification score can predict future coronary artery disease in hemodialysis patients: a 5-year prospective cohort study. *BMC Nephrol*. 2018;19(1):313.
125. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Gómez-Campderá F, Luño J. Predictive cardiovascular risk factors in patients with chronic kidney disease (CKD). *Kidney Int Suppl*. 2005;(93):S35–8.
126. Bang CN, Soliman EZ, Simpson LM, Davis BR, Devereux RB, Okin PM. Electrocardiographic Left Ventricular Hypertrophy Predicts Cardiovascular Morbidity and Mortality in Hypertensive Patients: The ALLHAT Study. *Am J Hypertens*. 2017;30(9):914–22.
127. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*. 2001;285(19):2481–5.
128. Sattar N, Murray HM, Welsh P, Blauw GJ, Buckley BM, Cobbe S, et al; Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER) Study Group. Are markers of inflammation more strongly associated with risk for fatal than for nonfatal vascular events? *PLoS Med*. 2009;6(6):e1000099.
129. Hsu HJ, Yen CH, Hsu KH, Wu IW, Lee CC, Sun CY, et al. Chronic kidney disease stage is a modulator on the association between high-sensitivity C-reactive protein and coronary vasospastic angina. *Scientific World Journal*. 2014;2014:852507, 9 pages.
130. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003;107(3):363–9.
131. van der Sande FM, Kooman JP, Leunissen KM. The predictive value of C-reactive protein in end-stage renal disease: is it clinically significant? *Blood Purif*. 2006;24(4):335–41.

132. Mallat Z, Corbaz A, Scoazec A, Besnard S, Leseche G, Chvatchko Y, et al. Expression of Interleukin-18 in Human Atherosclerotic Plaques and Relation to Plaque Instability. *Circulation*. 2001; 104(14):1598–603.
133. Formanowicz D, Wanic-Kossowska M, Pawliczak E, Radom M, Formanowicz P. Usefulness of serum interleukin-18 in predicting cardiovascular mortality in patients with chronic kidney disease – systems and clinical approach. *Sci Rep*. 2015;5:18332.
134. Chang CH, Fan PC, Lin CY, Yang CH, Chen YT, Chang SW et al. Elevation of Interleukin-18 Correlates With Cardiovascular, Cerebrovascular, and Peripheral Vascular Events: A Cohort Study of Hemodialysis Patients. *Medicine* 2015;94(42):e1836.
135. Locatelli F, Bommer J, London GM, Martín-Malo A, Wanner C, Yaqoob M, et al. Cardiovascular disease determinants in chronic renal failure: clinical approach and treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16(3):459–68.
136. Strobel NA, Fassett RG, Marsh SA, Coombes JS. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. *Int J Cardiol*. 2011;147(2):191–201.
137. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, *Alexandria J Med*. 2018; 54:4:287–93.
138. Jiménez-Rosales A, Amaya-Chávez A, Domínguez García MV, Camarillo-Romero E, Huitrón Bravo G G, Cruz AM. Association of Inflammatory and Oxidative Stress Biomarkers in Subjects With Cardiovascular Risk. *Am J Ther*. 2013;20(4):422–31.
139. Peng JR, Lu TT, Chang HT, Ge X, Huang B, Li WM. Elevated Levels of Plasma Superoxide Dismutases 1 and 2 in Patients with Coronary Artery Disease. *Biomed Res Int*. 2016;2016:3708905
140. Nepal M, Jaisawal S, Guragain M, Kafle P, Mukkera S, Ghimire RK et al. Ischemic Modified Albumin (IMA) As a Novel Marker for Ischemic Heart Disease and Surrogate Marker for Other High Oxidative-Ischemic Conditions. *J Cardiovascular Disease Res* 2017;8(4);112–6.
141. Sharma R, Gaze D, Pellerin D, Mehta RL, Gregson H, Streather CP, et al. Ischemia-Modified Albumin Predicts Mortality in ESRD. *Am J Kidney Dis*. 2006;47(3):493–502.
142. Smith ER, Lee D, Cai MM, Tomlinson LA, Ford ML, McMahon LP, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin may aid prediction of renal decline in patients with non-proteinuric Stages 3 and 4 chronic kidney disease (CKD). *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28:1569–79.
143. Hasegawa M, Ishii J, Kitagawa F, Takahashi H, Sugiyama K, Tada M et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as a Predictor of Cardiovascular Events in Patients with Chronic Kidney Disease. *Biomed Res Int*. 2016;2016:8761475.
144. Liu KD, Yang W, Go AS, Anderson AH, Feldman HI, Fischer MJ et al. Urine Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Risk of Cardiovascular Disease and Death in CKD: Results From the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Am J Kidney Dis*. 2015;65(2):267–74.
145. Alderson HV, Ritchie JP, Pagano S, Middleton RJ, Pruijm M, Vuilleumier N, et al. The Associations of Blood Kidney Injury Molecule-1 and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin with Progression from CKD to ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016; 11(12):2141–9.

146. Medić B, Rovčanin B, Basta-Jovanović G, Radojević-Škodrić S, Prostran M. Kidney Injury Molecule-1 and Cardiovascular Diseases: From Basic Science to Clinical Practice. *Biomed Res Int*. 2015;2015:854070.
147. Park M, Hsu CY, Go AS, Feldman HI, Xie D, Zhang X et al. Urine Kidney Injury Biomarkers and Risks of Cardiovascular Disease Events and All-Cause Death: The CRIC Study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(5):761–71.
148. Da Costa Martins PA, Leptidis S, Salic K, De Windt LJ. MicroRNA regulation in cardiovascular disease. *Curr Drug Targets*. 2010;11(8):900–6.
149. Mitchell P, Parkin R, Kroh E, Fritz B, Wyman S, Pogosova-Agadjanyan E, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *PNAS*. 2008;105(30):10513–18.
150. Iguchi H, Kosaka N, Ochiya T. Secretory microRNAs as a versatile communication tool. *Commun Integr Biol*. 2010;3(5):478–81.
151. Silva DCP, Carneiro FD, Almeida KC, Fernandes-Santos C. Role of miRNAs on the Pathophysiology of Cardiovascular Diseases. *Arq Bras Cardiol*. 2018;11(05):738-46.
152. Piubelli C, Meraviglia V, Pompilio G, D'Alessandra Y, Colombo GI, Rossini A. MicroRNAs and Cardiac Cell Fate. *Cells*. 2014;3(3):802-23.
153. Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, Willeit P, Mayr U, Prokopi M, et al. Plasma MicroRNA profiling reveals loss of endothelial MiR-126 and other MicroRNAs in type 2 diabetes. *Circulation Research*. 2010; 107:810–7.
154. Ryu HS, Park SY, Ma D, Zhang J, Lee W. The Induction of MicroRNA Targeting IRS-1 Is Involved in the Development of Insulin Resistance under Conditions of Mitochondrial Dysfunction in Hepatocytes. *PLoS ONE*. 2011;6(3): e17343.
155. Li X, Wei Y, Wang Z. MicroRNA-21 and hypertension. *Hypertens Res*. 2018;41(9):649–61.
156. Flowers E, Aouizerat BE. MicroRNA associated with dyslipidemia and coronary disease in humans. *Physiol Genomics*. 2013;45(24):1199–205.
157. De Lucia C, Komici K, Borghetti G, Femminella GD, Bencivenga L, Cannavo A, et al. MicroRNA in Cardiovascular Aging and Age-Related Cardiovascular Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2017; 4:74.
158. Romaine SPR, Tomaszewski M, Condorelli G, Samani NJ. MicroRNAs in cardiovascular disease: an introduction for clinicians. *Heart* 2015;101(12):921–8.
159. Zampetaki A, Willeit P, Tilling L, Drozdov I, Prokopi M, Renard JM, et al. Prospective study on circulating microRNAs and risk of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(4):290–9.
160. Devaux Y, Vausort M, McCann GP, Kelly D, Collignon O, Ng LL, et al. A panel of 4 microRNAs facilitates the prediction of left ventricular contractility after acute myocardial infarction. *PLoS One*. 2013;8(8):e70644.

161. Eyileten C, Wicik Z, De Rosa S, Mirowska-Guzel D, Soplinska A, Indolfi C, et al. MicroRNAs as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Ischemic Stroke—A Comprehensive Review and Bioinformatic Analysis. *Cells*. 2018;7(12):249.
162. Naomi M, Hamburg and Nicholas J. Leeper. Therapeutic Potential of Modulating MicroRNA in Peripheral Artery Disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2015;13(3):316–23.
163. Elmadbouly AA , Hamdy RM, Elsaheed AM , Hassan MA , Agiba NA , Mansour HH, et al. The Plasma Level of miRNA-133a as a Novel Biomarker for Prediction of Left Ventricular Hypertrophy and Dysfunction in Hemodialysis Patients. *Am J Biochem*. 2017;7(5):91–9.
164. Wen P, Song D, Ye H, Wu X, Jiang L, Tang B, et al. Circulating MiR-133a as a Biomarker Predicts Cardiac Hypertrophy in Chronic Hemodialysis Patients. *PLoS ONE*. 2014; 9(10): e103079.
165. Raj DS, Carrero JJ, Shah VO, Qureshi AR, Bárány P, Heimbürger O, et al. Soluble CD14 levels, interleukin 6, and mortality among prevalent hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2009; 54(6):1072–80.
166. Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Jungers P, Drüeke TB, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia. *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14 (1):76–8.
167. Sangeetha Lakshmi B, Harini Devi N, Suchitra MM, Srinivasa Rao PVLN, Siva Kumar V. Changes in the inflammatory and oxidative stress markers during a single hemodialysis session in patients with chronic kidney disease. *Ren Fail*. 2018;40(1):534–40.
168. Cheitlin MD, Armstrong WF, Aurigemma GP, Aurigemma GP, Beller GA, Bierman FZ, et al. ACC/AHA/ASE 2003 guideline update for the clinical application of echocardiography: Summary article. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2003, 42, 954–970. Available online: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109703010659> (accessed on 15 January 2021).
169. KDOQ International Kidney Foundation: KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*. 2006;47(3): S11–S145.
170. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of Anemia in CKD. *JASN*. 2012;23(10):1631–4.
171. van Haalen H, Jackson J, Spinowitz B, Milligan G, Moon R. Impact of chronic kidney disease and anemia on health-related quality of life and work productivity: analysis of multinational real-world data. *BMC Nephrol*. 2020;21(1):88.
172. Foley RN, , Collins AJ, Herzog CA, Ishani A, Kalra PA. Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *J Am Soc Nephrol* 2009 Feb;20(2):397–404.
173. Yuen NK, Ananthakrishnan S, Campbell MJ. Hyperparathyroidism of Renal Disease. *Perm J*. 2016;20(3):15–127.
174. Hörl WH. The clinical consequences of secondary hyperparathyroidism: focus on clinical outcomes. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(5):V2-8.

175. Kovesdy C, Kopple JD, Kalandar-Zadeh K. Management of protein energy wasting in non-dialysis-dependent chronic kidney disease: reconciling low protein intake with nutritional therapy. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(6):1163–77.
176. Iorember FM. Malnutrition in Chronic Kidney Disease. *Front Pediatr.* 2018; 6:161.
177. Freda BJ, Tang WHW, Van Lente F, Peacock WF, Franci GS. Cardiac troponins in renal insufficiency. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(12):2065–71.
178. Michos ED, Wilson LM, Yeh HC, Berger Z, Suarez-Cuervo C, Stacy SR, et al. Prognostic value of cardiac troponin in patients with chronic kidney disease without suspected acute coronary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2014;161(7):491–501.
179. NACB Writing Group, Wu AH, Jaffe AS, Apple FS, Jesse RL, Francis GL, Morrow DA, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines: use of cardiac troponin and B-type natriuretic peptide or N-terminal proB-type natriuretic peptide for etiologies other than acute coronary syndromes and heart failure. *Clin Chem.* 2007;53(12):2086–96.
180. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999; 340:448–54.
181. Lawson JA, Lazarus R, Kelly JJ. Prevalence and prognostic significance of malnutrition in chronic renal insufficiency. *J Ren Nutr.* 2001;11(1):16–22.
182. Oluseyi A, Enajite O. Malnutrition in pre-dialysis chronic kidney disease patients in a teaching hospital in Southern Nigeria. *Afr Health Sci.* 2016;16(1):234–41.
183. Charytan D. Is left ventricular hypertrophy a modifiable risk factor in end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014;23(6):578–85.
184. Strozecki P, Adamowicz A, Nartowicz E, OdrowazSypniewska G, Włodarczyk Z, Manitius J. Parathormon, calcium, phosphorus, and left ventricular structure and function in normotensive hemodialysis patients. *Ren Fail.* 2001; 23:115–26.
185. Galetta F, Cupisti A, Franzoni F, Femia FR, Rossi M, Barsotti G, et al. Left ventricular function and calcium phosphate plasma levels in uraemic patients. *J Intern Med.* 2005; 258:378 –84.
186. Achinger SG, Ayus JC. Left Ventricular Hypertrophy: Is Hyperphosphatemia among Dialysis Patients a Risk Factor? *JASN.* 2006;17(12-3) S255–S261.
187. Di Lullo L, Gorini A, Russo D, Santoboni A, Ronco C. Left Ventricular Hypertrophy in Chronic Kidney Disease Patients: From Pathophysiology to Treatment. *Cardiorenal Med.* 2015;5(4):254–66.
188. D. Petrović, *Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika na hemodijalizi: monografija*, Kragujevac 2012, 213.
189. London GM. Cardiovascular Disease in Chronic Renal Failure: Patophysiologic Aspects. *Semin Dial.* 2003;16 (2):85–94.
190. London GM, Guerin AP, Marchais SJ. Hemodynamic Overload in End-Stage Renal Disease Patients. *Semin Dial.* 1999;12 (2):77–83.
191. Cozzolino M, Mangano M, Stucchi A, Ciceri P, Conte F, Galassi A. Cardiovascular disease in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2018;33(3):iii28–iii34.

192. Rossert JA, McClellan WM, Roger SD, Verbeelen DL, Hörl WH. Contribution of anaemia to progression of renal disease: a debate. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(1):60–6.
193. Levin A. Anemia and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease populations: A review of the current state of knowledge. *Kidney Int*. 2002;61:S35–S38.
194. Robert J. Sstraka, Amy L. Swanson. Calcium Channel Antagonists: Morbidity and Mortality—What's the Evidence? University of Minnesota College of Pharmacy, Minneapolis, Minnesota. Veterans Affairs Medical Center, West Palm Beach, Florida. *Am Fam Physician*. 1998;57(7):1551–60.
195. Anand IS, Chandrashekhar Y, Ferrari R, Poole-Wilson PA, Harris PC. Pathogenesis of oedema in chronic severe anaemia: Studies of body water and sodium, renal function, haemodynamic variables, and plasma hormones. *Br Heart J*. 1993;70:357–62.
196. Elhendy A, Modesto KM, Mahoney DW, Khandheria BK, Seward JB, Pellikka PA. Prediction of mortality in patients with left ventricular hypertrophy by clinical, exercise stress, and echocardiographic data. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:129–35.
197. Vlagopoulos PT. Anemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality in Diabetes: The Impact of Chronic Kidney Disease. *JASN*. 2005;16(11):3403–10.
198. Al-Ahmad A, Rand WM, Manjunath G, Konstam MA, Salem DN, Levey AS, et al. Reduced kidney function and anemia as risk factors for mortality in patients with left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:955–62.
199. Soriano S, González L, Martín-Malo A, Rodríguez M, Aljama P. C-reactive protein and low albumin are predictors of morbidity and cardiovascular events in chronic kidney disease (CKD) 3-5 patients. *Clin Nephrol*. 2007;67(6):352–7.
200. Shah NR, Dumler F. Hypoalbuminaemia--a marker of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease stages II-IV. *Int J Med Sci*. 2008;5(6):366-70.
201. Beddhu S, Kaysen GA, Yan G, Sarnak M, Agodoa L, Ornt D, et al; HEMO Study Group. Association of serum albumin and atherosclerosis in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2002;40(4):721–7.
202. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, Kanakura Y, Sawada K, Tomonaga M, et al; Japanese National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *Eur J Haematol*. 2007;78(6):487–94.
203. Kadoglou NPE, Biddulph JP, Rafnsson SB, Trivella M, Nihoyannopoulos P, Demakakos P. The association of ferritin with cardiovascular and all-cause mortality in community-dwellers: The English longitudinal study of ageing. *PLOS ONE*. 2017; 12(6), e0178994.
204. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV, Torti FM. Ferritin for the clinician. *Blood Rev*. 2009;23(3):95–104.
205. Giardino I, D'Apolito M, Brownlee M, Bruna Maffione A, Laura Colia A, Sacco M, et al. Vascular toxicity of urea, a new “old player” in the pathogenesis of chronic renal failure induced cardiovascular diseases. *Turk Pediatri Ars*. 2017;52(4):187–93.



206. Vanholder R, Gryp T, Glorieux G. Urea and chronic kidney disease: the comeback of the century? (in uraemia research). *Nephrol Dial Transplant*. 2018;33(1):4–12.
207. Rosi A, Gheorghiane M, Triposkiadis F, Solomon SD, Pieske B, Butler J. Left Atrium in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Circ Heart Fail* 2014;7(6):1024–9.
208. Huang BT, Peng Y, Liu W, Zhang C, Huang FY, Wang PJ, et al. Increased interventricular septum wall thickness predicts all-cause death in patients with coronary artery disease. *Intern Med J*. 2015;45(3):275–83.
209. Franczyk-Skóra B, Gluba A, Olszewski R, Banach M, Rysz J. Heart function disturbances in chronic kidney disease - echocardiographic indices. *Arch Med Sci*. 2014;10(6):1109–16.
210. Edelstein CL. Biomarkers in Acute Kidney Injury. *Biomarkers of Kidney Disease*. 2017;241–315. doi:10.1016/b978-0-12-803014-1.00006-6.
211. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(2):337–44.
212. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, Mitsnefes M, et al. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(12):3073–82.
213. Bolignano D, Coppolino G, Lacquaniti A, Nicocia G, Buemi M. Pathological and prognostic value of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in macroproteinuric patients with worsening renal function. *Kidney Blood Press Res*. 2008;31(4):274–9.
214. Kelly M, Lacour B, Nguyen-Khoa T. Dysregulation of superoxide dismutase in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract*. 2005;100(3):c103–4.
215. Greiber S, Müller B, Daemisch P, Pavenstädt H. Reactive Oxygen Species Alter Gene Expression in Podocytes: Induction of Granulocyte Macrophage-Colony-Stimulating Factor. *JASN*. 2002;13(1):6–95.
216. Gyurászová M, Gurecká R, Bábícková J, Tóthová L. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Kidney Disease: Implications for Noninvasive Monitoring and Identification of Biomarkers. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2020(5):1–11.
217. Kiyici A, Mehmetoğlu I, Karaoğlu H, Atalay H, Solak Y, Türk S. Ischemia-modified albumin levels in patients with end-stage renal disease patients on hemodialysis: does albumin analysis method affect albumin-adjusted ischemia-modified albumin levels? *J Clin Lab Anal*. 2010;24(4):273–7.
218. Turedi S, Cinar O, Yavuz I, Mentese A, Gunduz A, Karahan SC, et al. Differences in ischemia-modified albumin levels between end stage renal disease patients and the normal population. *J Nephrol*. 2010.23(3):335–40.
219. Porazko T, Kúzniar J, Kusztal M, Kúzniar TJ, Weyde W, Kuriata-Kordek M, et al. IL-18 is involved in vascular injury in end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(2):589–96.
220. Banerjee T, Kim SJ, Astor B, Shafi T, Coresh J, Powe NR. Vascular access type, inflammatory markers, and mortality in incident hemodialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for End-Stage Renal Disease (CHOICE) Study. *Am J Kidney Dis*. 2014;64(6):954–61.

221. Nassar GM, Fishbane S, Ayus JC. Occult infection of old nonfunctioning arteriovenous grafts: a novel cause of erythropoietin resistance and chronic inflammation in hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl.* 2002;(80):49–54.
222. Wei Q, Mi QS, Dong Z. The regulation and function of microRNAs in kidney diseases. *IUBMB Life.* 2013;65(7):602–14.
223. Wang G1, Kwan BC, Lai FM, Choi PC, Chow KM, Li PK, et al. Intrarenal expression of miRNAs in patients with hypertensive nephrosclerosis. *Am J Hypertens.* 2010;23(1):78–84.
224. Wang S, Chen F, Yang S, Shi J. Interleukin-18. *Int Heart J.* 2018;59(4):786–790.
225. Nuhu F, Bhandari S. Oxidative Stress and Cardiovascular Complications in Chronic Kidney Disease, the Impact of Anaemia. *Pharmaceuticals (Basel).* 2018;11(4):103.
226. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2000;356(9237):1213–8.
227. Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation.* 2003 Feb 25;107(7):992–5.
228. Manuel A, Gómez-Marcos, Ana M Blázquez-Medela, Luis Gamella-Pozuelo, José I. Recio-Rodriguez, Luis García-Ortiz, et al. Serum Superoxide Dismutase Is Associated with Vascular Structure and Function in Hypertensive and Diabetic Patients. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016; Article ID 9124676, 8 pages.
229. Su X, Zhang K, Guo F, Yuan B, Wang C, Xiao L, et al. Ischemia-modified albumin, a predictive marker of major adverse cardiovascular events in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Clin Biochem.* 2013;46(15):1410–3.
230. Jiao D, Guo F, Yue M, Tian Z. Ischemia-Modified Albumin Is Associated with Arterial Stiffness in Hemodialysis Patients. *Int. Heart J.* 2020; doi:10.1536/ihj.19–489.
231. Tucker PS, Dalbo VJ, Han T, Kingsley MI. Clinical and research markers of oxidative stress in chronic kidney disease. *Biomarkers.* 2013;18(2):103–15.
232. Seibert FS, Sitz M, Passfall J, Haesner M, Laschinski P, Buhl M, et al. Prognostic Value of Urinary Calprotectin, NGAL and KIM-1 in Chronic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res.* 2018;43(4):1255–62.
233. Paoletti E, Bellino D, Cassottana P, Rolla D, Cannella G. Left ventricular hypertrophy in nondiabetic predialysis CKD. *Am J Kidney Dis.* 2005;46(2):320–7.
234. Kim IY, Kim JH, Kim MJ, Lee DW, Hwang CG, Han M, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is independently associated with left ventricular hypertrophy and diastolic dysfunction in patients with chronic kidney disease. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205848.
235. Zang J, Maxwell AP, Simpson DA, McKay GJ. Differential Expression of Urinary Exosomal MicroRNAs miR-21-5p and miR-30b-5p in Individuals with Diabetic Kidney Disease. *Sci Rep.* 2019; 9(1):10900.

236. Xu J, Chen Z, Wang Y, Wang X, Chen L, Yuan T, et al. Several circulating miRNAs related to hyperlipidemia and atherosclerotic cardiovascular diseases. *Lipids Health Dis.* 2019;18(1):104.
237. Casimir GJA, Duchateau J, Hassan J, Carr M J. Gender Differences in Inflammatory Processes Could Explain Poorer Prognosis for Males. *J Clin Microbiol.* 2010;49(1):478–9.
238. Stea S, Pasquale D, Beraudi A, Catalani S, Amabile M, Bracci G, et al. Ischemia-Modified Albumin Expression: Is there a Difference between Male and Female Subjects? *Clin Lab.* 2019;65(6). doi: 10.7754/Clin.Lab.2018.180811.
239. Miljkovic M, Stefanovic A, Simic-Ogrizovic S, Vekic J, Bogavac-Stanojevic N, Cerne D, et al. Association of Dyslipidemia, Oxidative Stress, and Inflammation With Redox Status in VLDL, LDL, and HDL Lipoproteins in Patients With Renal Disease. *Angiology.* 2018;69(10):861–70.
240. Yang RL, Shi YH, Hao G, Li W, Le GW. Increasing Oxidative Stress with Progressive Hyperlipidemia in Human: Relation between Malondialdehyde and Atherogenic Index. *J Clin Biochem Nutr.* 2008;43(3):154–8.
241. Emans ME, Braam B, Diepenbroek A, van der Putten K, Cramer MJ, Wielders JPM, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Chronic Cardiorenal Failure is Correlated with Endogenous Erythropoietin Levels and Decreases in Response to Low-Dose Erythropoietin Treatment. *Kidney Blood Press Res.* 2012;36(1):344–54.
242. Rancourt ME, Rodrigue ME, Agharazii M, Lariviere R, Lebel M. Role of Oxidative Stress in Erythropoietin-Induced Hypertension in Uremic Rats. *Am J Hypertens.* 2010;23(3):314–20.
243. Nakamura K, Murakami M, Miura D, Yunoki K, Enko K, Tanaka M, et al. Beta-Blockers and Oxidative Stress in Patients with Heart Failure. *Pharmaceuticals (Basel).* 2011;4(8):1088–100.
244. Gomes A, Costa D, Lima JL, Fernandes E. Antioxidant activity of beta-blockers: an effect mediated by scavenging reactive oxygen and nitrogen species? *Bioorg Med Chem.* 2006;14(13):4568–77.
245. Nagatomo Y, Yoshikawa T, Kohno T, Yoshizawa A, Anzai T, Meguro T, et al. Effects of  $\beta$ -Blocker Therapy on High Sensitivity C-Reactive Protein, Oxidative Stress, and Cardiac Function in Patients With Congestive Heart Failure. *J Card Fail.* 2007;13(5):365–71.
246. Patel M, Sachan R, Gangwar R, Sachan P, Natu S. Correlation of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin with acute kidney injury in hypertensive disorders of pregnancy. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2013;6:181–6.
247. Mårtensson J, Martling CR, Bell M. Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. *Br J Anaesth.* 2012;109(6):843–50.
248. Culleton BF. Impact of anemia on hospitalization and mortality in older adults. *Blood.* 2006;107(10):3841–6.
249. Liu Y-W, Su C-T, Chang Y-T, Tsai W-C, Su Y-R, Wang SPH, et al. Elevated Serum Interleukin-18 Level Is Associated with All-Cause Mortality in Stable Hemodialysis Patients Independently of Cardiac Dysfunction. *PLoS ONE.* 2014;9(3):e89457.

250. Romuk E, Jacheć W, Kozielska-Nowalany, Birkner E, Zemła-Woszek A, Wojciechowska C. Superoxide dismutase activity as a predictor of adverse outcomes in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *Cell Stress Chaperones*. 2019;24:661–73.
251. Park M, Hsu CY, Go AS, Feldman HI, Xie D, Zhang X, et al; Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study Investigators; CKD Biomarkers Consortium. Urine Kidney Injury Biomarkers and Risks of Cardiovascular Disease Events and All-Cause Death: The CRIC Study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(5):761–71.
252. Worster A, Devereaux PJ, Heels-Ansdell D, Guyatt GH, Opie J, Mookadam F, et al. Capability of ischemia-modified albumin to predict serious cardiac outcomes in the short term among patients with potential acute coronary syndrome. *CMAJ*. 2005;172(13):1685–90.

## **Biografija autora**

Bojan Stopić rođen je 03.06.1989. godine u Užicu (Republika Srbija) gde je završio osnovnu i Srednju medicinsku školu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 2008. godine, a diplomirao je 18. jula 2014. godine kao jedan od najbolje diplomiranih studenata sa prosečnom ocenom 10,00 (deset). Dobitnik mnogobrojnih nagrada, pohvala i stipendija među kojima se izdvaja stipendija Fonda za mlade talente Republike Srbije u školskoj 2013/2014. godini.

Obavezan lekarski staž obavio je u Kliničko-bolničkom centru „Zvezdara“ u Beogradu, a stručni ispit za doktora medicine je položio 27. aprila 2015. godine. Doktorand je od 2014.godine pošto je upisao doktorske akademske studije na Medicinskom fakultetu u Beogradu, smer medicinska farmakologija. Stalno je zaposlen na Kliničkom odeljenju za nefrologiju i metaboličke poremećaje sa dijalizom „Prof. dr Vasilije Jovanović“, Kliničko bolničkog centra „Zvezdara“ u Beogradu gde radi od 01. juna 2015. godine.

Nalazi se na specijalizaciji iz Interne medicine od 17.04.2018. godine. Član je Udruženja nefrologa Srbije. Angažovan kao istraživač doktorand na projektu pod nazivom „Bazična i kliničko-farmakološka ispitivanja mehanizma dejstva i interakcije lekova u nervnom i kardiovaskularnom sistemu” (evidencioni broj projekta 175023, nosilac projekta prof. dr Sonja Vučković).

Tečno govori engleski jezik.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Bojan Stopić

Broj indeksa MF-04/14

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Prediktori nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u različitim stadijumima hronične bolesti bubrega

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**

U Beogradu, 25.02.2022. godine

---

## **Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada**

**Ime i prezime autora** Bojan Stopić

**Broj indeksa** MF-04/14

**Studijski program** Medicinska farmakologija

**Naslov rada** Prediktori nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u različitim stadijumima hronične bolesti bubrega

**Mentor** Prof. dr Nada Dimković

**Komentor** Doc. dr Branislava Medić Brkić

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjivanja u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktor nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, 25.02.2022. godine

---

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Prediktori nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u različitim stadijumima hronične bolesti bubrega

---

---

koje je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)

2. Autorstvo - nekomercijalno (CC BY-NC)

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

5. Autorstvo - bez prerada (CC BY-ND)

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molim da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave )

**Potpis autora**

U Beogradu, 25.02.2022. godine

---



**1. Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

**2. Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

**3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

**4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

**5. Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

**6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.