

Fresenius Medical Care Centar za dijalizu Šamac, R.Srpska, Bosna i Hercegovina¹ Originalni naučni rad

Univerzitet u Istočnom Sarajevu, R. Srpska, Bosna i Hercegovina

Medicinski fakultet Foča²

Klinički centar Srbije, Klinika za nefrologiju, Beograd³

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet⁴

Original study

UDK 616.61-008.6-78:616.155.194]-08

DOI: 10.2298/MPNS1304130P

RAZLIKE U ODGOVORU BOLESNIKA LEČENIH HEMODIJALIZAMA NA HUMANI REKOMBINOVANI ERITROPOETIN

DIFFERENT RESPONSE TO HUMAN RECOMBINANT ERYTHROPOIETIN IN PATIENTS UNDERGOING HEMODIALYSIS TREATMENT

Nenad PETKOVIĆ¹, Siniša RISTIĆ², Milan STOŠOVIĆ³ i Ljubica ĐUKANOVIĆ⁴

Sažetak

Uvod. Primena humanog rekombinovanog eritropoetina omogućava oporavak bolesnika sa anemijom lečenih hroničnim hemodijalizama, ali su primećene velike individualne razlike u dozi humanog rekombinovanog eritropoetina koja je potrebna da se postigne željeni oporavak. U ovom radu je ispitan indeks rezistencije na eritropoetin kod bolesnika koji se leče hemodijalizama sa ciljem da se utvrde varijacije u odgovoru na eritropoetin i faktori koji na taj odgovor utiču. **Materijal i metode.** Ispitivanjem je obuhvaćeno 48 bolesnika, 25 muškog pola, prosečne starosti 67,5 godina, koji su lečeni hemodijalizama u Šamcu, prosečno 43,9 meseci. Svi su lečeni eritropoetinom od početka primene hemodijalize. Odgovor na terapiju eritropoetinom procenjen je pomoću indeksa rezistencije na eritropoetin. **Rezultati.** Primena eritropoetina omogućila je oporavak bolesnika od anemije i postizanje ciljne vrednosti hemoglobina kod svih bolesnika, ali je postizanje i održavanje ove vrednosti zahtevalo primenu različitih doza eritropoetina. Doza eritropoetina kretala se od 15 do 244 U/kg/nedeljno, a indeks rezistencije na eritropoetin od 0,13 do 2,46 U/kg/nedeljno/g/l. Zadovoljavajući odgovor uz indeks rezistencije na eritropoetin ispod 0,5 U/kg/nedeljno/g/l imalo je 14 (30%) bolesnika, dok je ovaj indeks kod 19 (40%) bolesnika bio iznad 0,7 U/kg/nedeljno/g/l, a čak kod 10 (21%) iznad 0,9 U/kg/nedeljno/g/l. Multivarijantna linearna regresiona analiza pokazala je da je C-reaktivni protein nezavisni prediktor povezan sa indeksom rezistencije na eritropoetin. **Zaključak.** Postizanje i održavanje ciljne vrednosti hemoglobina zahtevalo je primenu različitih doza eritropoetina kod pojedinih bolesnika, što je uslovalo i značajne individualne razlike u indeksu rezistencije na eritropoetin. Multivarijantna analiza izdvojila je C-reaktivni protein kao značajan nezavisni prediktor ovog indeksa.

Ključne reči: Hemodijaliza; Eritropoetin; Ishod lečenja; Rezistencija na lek; Anemija; C-reaktivni protein; Muško; Stari

Summary

Introduction. Treatment with recombinant human erythropoietin enabled the correction of anemia in the patients on regular hemodialysis but large individual differences in the dose required to achieve the target hemoglobin level were observed. In this study the erythropoietin resistance index was calculated in patients on hemodialysis in order to examine variations in the response to erythropoietin and factors that influence it. **Material and Methods.** The study included 48 patients (25 males) of mean age 67.5 years, who had been on regular hemodialysis in Šamac for 43.9 months on average. All were treated with erythropoietin from the beginning of hemodialysis treatment. Their response to erythropoietin therapy was estimated by the erythropoietin resistance index. **Results.** The use of erythropoietin enabled the correction of anemia but different doses were needed to achieve and maintain the target hemoglobin level. The individual weekly dose of erythropoietin ranged from 15 U/kg/week to 244 U/kg/week and the erythropoietin resistance index ranged from 0.13 U/kg/week/g/l to 2.46 U/kg/week/g/l. A satisfactory erythropoietin response with erythropoietin resistance index below 0.5 U/kg/week/g/l was found in 14 (30%) patients, while 19 (40%) patients had this index above 0.7 U/kg/week/g/l and 10 (21%) above 0.9 U/kg/week/g/l. Multivariate linear regression analysis detected C-reactive protein as a significant predictor of erythropoietin resistance index. **Conclusion.** Target hemoglobin levels were achieved and maintained by different doses of erythropoietin in individual patients, which resulted in great individual differences in response as estimated by the erythropoietin resistance index. Multivariate analysis indicated C-reactive protein as a variable significantly associated with this index.

Key words: Renal Dialysis; Erythropoietin; Treatment Outcome; Drug Resistance; Anemia; C-Reactive Protein; Male; Aged

Uvod

Anemija predstavlja jedan od najčešćih poremećaja u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji (HBI) koji je pre više od 170 godina opisao Richard Bright [1]. Ona je posledica skraćenog životnog veka

Napomena: Istraživanja prikazana u ovom radu delom su finansirana sredstvima naučnoistraživačkog projekta broj 19/6-020/961-216/10 Ministarstva za nauku i tehnologiju Republike Srpske.

Adresa autora: Dr Nenad Petković, Fresenius Medical Care Centar za dijalizu, 76230 Šamac, Cara Dušana 70, R.Srpska, BiH, E-mail: nenad.petkovic@fmc-ag.com

Skraćenice

Epo	– humani rekombinantni eritropoetin
ERI	– indeks rezistencije na eritropoetin
CRP	– C-reaktivni protein
HBI	– hronična bubrežna insuficijencija
ACEI	– inhibitori angiotenzin-konvertujućeg enzima
Kt/V	– indeks adekvatnosti dijalize
BMI	– indeks telesne mase
HD	– hemodijaliza
PTH	– paratiroidni hormon
MAP	– srednji arterijski pritisak

eritrocita, hroničnih gubitaka krvi, neadekvatne eritropoeze uzrokovane inhibitorima eritropoeze, ali u najvećoj meri neadekvatnog lučenja eritropoetina [2].

Ekspertimentalne studije su pokazale da je bubrež primarno mesto sinteze eritropoetina kod odraslih, pri čemu je uloga jetre u njegovoj sintezi zanemarljiva [3]. Intersticijalne ćelije pozitivne za eritropoetin mRNA registrovane su duboko u korteksu i spoljašnjoj meduli bubrega, a sa produbljivanjem anemije ove ćelije se umnožavaju i šire u površni deo korteksa [4]. Kod bolesnika sa HBI stepen anemije je proporcionalan stepenu azotemije, a srednje bazalne vrednosti eritropoetina u krvi (19–30 mU/ml) znatno su niže nego kod zdravih osoba sa istim stepenom anemije [5]. Kod zdravih osoba koncentracija eritropoetina u plazmi može porasti od normalnih vrednosti 10–12 mU/ml na vrednost od oko 1 000 mU/ml ukoliko vrednost hemoglobina padne ispod 60 g/l. Kod bubrežnih bolesnika je ova negativna povratna sprega poremećena i koncentracija hemoglobina korelira direktno sa koncentracijom eritropoetina u plazmi. Istraživanja ukazuju da oboleli bubrež proizvodi izvesnu ali nedovoljnu količinu ovog hormona i nije u stanju da tu produkciju poveća u skladu sa povećanim zahtevima usled hipoksičnog stimulusa [2,5].

Otkriće humanog rekombinovanog eritropoetina (Epo) omogućilo je lečenje anemije svih bolesnika kod kojih je anemija prvenstveno uzrokovana nedostatkom eritropoetina. Prvo je Epo primenjen kod bolesnika sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom lečenih redovnim hemodijalizama [6,7], a tokom protekle decenije njegova primena se proširila i na druge grupe bolesnika. Posle prvih pokušaja primene Epo kod bolesnika sa terminalnom insuficijencijom bubrega lečenih hemodijalizama, više je multicentričnih studija potvrdilo da taj preparat omogućava potpunu korekciju anemije ovih bolesnika [8–10]. Ove prve studije su, takođe, omogućile da se utvrde indikacije i kontraindikacije, optimalan način primene Epo, kao i njegova korisna i neželjena dejstva.

Prema Evropskom vodiču za lečenje anemije bolesnika sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom, Epo treba primeniti kod svih bolesnika sa insuficijencijom bubrega kod kojih je hemoglobin manji od 110 g/l i hematokrit manji od 33% ako su prethodno isključeni i/ili otklonjeni svi ostali čini-

oci koji bi mogli uzrokovati ili pogoršati anemiju bubrežnih bolesnika [11].

Brzina kojom se oporavljaju bolesnici od anemije tokom lečenja eritropoetinom, kao i doze neophodne da se postigne ciljna koncentracija hemoglobina, pokazuju velike individualne varijacije. Najčešće se oporavak postiže posle 7–8 nedelja sa prosečnom dozom oko 200 U/kg nedeljno, a prosečna doza održavanja najčešće je oko 70 U/kg nedeljno [8,9,12]. Varijacije u odgovoru primećene su u svim fazama lečenja, ali su uzroci ovih individualnih varijacija još uvek nedovoljno poznati [13–15]. U ovom radu je odgovor na terapiju eritropoetinom, procenjen pomoću indeksa rezistencije na Epo, ispitan kod bolesnika u terminalnoj insuficijenciji bubrega lečenih hemodijalizama. Cilj istraživanja bio je da se ispita prevalencija nedovoljnog odgovora na lečenje eritropoetinom kod ovih bolesnika i utvrde činioci koji utiču na pojavu nedovoljnog odgovora na Epo.

Materijal i metode

Ispitivanjem je obuhvaćeno 48 od 74 bolesnika koji su se lečili ponavljanim hemodijalizama u Centru za dijalizu Samac. U studiju nisu uključeni bolesnici koji su dobijali *Mirceru*, njih 20, kao ni bolesnici koji su mesec dana pre početka ili tokom jednogodišnjeg perioda studije imali veći hiruški zahvat, krvarenje ili akutnu infekciju, ukupno njih 6. Svi bolesnici su bili na dijalizi 3 puta nedeljno, prosečno 4 časa; kod svih su primenjivani bikarbonatni puferi kao i biokompatibilne membrane (polisulfon, *high flux*). U ispitivanoj grupi bolesnika, 25 je bilo muškog pola; bolesnici su bili starosti 20–88 godina. Osnovna bubrežna bolest kod 29 bolesnika bila je balkanska endemska nefropatija (BEN), kod 4 bolesnika hronični glomerulonefritis, dijabetična nefropatija, takođe, kod 4 bolesnika, kod tri hronični pijelonefritis, kod dva nefroangioskleroza, dok je kod po jednog bolesnika osnovna bubrežna bolest bila hipoplazija bubrega, uratna nefropatija, policistična bolest bubrega i kalkuloza bubrega. Kod dva bolesnika osnovna bubrežna bolest bila je nepoznata.

Svi bolesnici su lečeni eritropoetinom (*Recomon MD, Roche*) od momenta početka lečenja hroničnim hemodijalizama. Doza je određivana na osnovu ciljne koncentracije hemoglobina koja je iznosila 100–120 g/l a bolesnici su Epo dobijali 2 puta nedeljno supkutano na kraju hemodijalize. Bolesnici su praćeni godinu dana od 1. januara 2010. godine do 31. decembra 2010. i u tom periodu je redovno praćeno njihovo kliničko stanje, laboratorijski parametri, a posebno krvna slika, status gvožđa u organizmu, doza Epo i indeks rezistencije na eritropoetin (ERI).

Neposredno pre početka druge dijalize u nedelji, bolesnicima su uzimani uzorci krvi za laboratorijske analize. Kompletna krvna slika određivana je metodom protočne citometrije, a hemoglobin spek-

Tabela 1. Demografske i kliničke karakteristike ispitane grupe bolesnika
Table 1. Demographic and clinical characteristics of the tested groups of patients

Ukupan broj bolesnika/Total number of patients	48
Pol, muški/ženski/Gender, male/female	25/23
Starost, godine/Age, years	67,5 (13,1)
BMI, kg/m ² /Body mass index, kg/m ²	25,4 (5,5)
Trajanje lečenja HD, meseci/Duration of HD, months	43,9 (31,7)
Srednji arterijski pritisak, mmHg/Mean arterial pressure, mmHg	89,5 (15,7)
Terapija ACEI, da/ne/Therapy with ACEI, yes/no	16/32
Kt/V	1,40 (0,2)

BMI - indeks telesne mase/body mass index, HD - hemodijaliza/hemodialysis, ACEI - inhibitori angiotenzin-konvertujućeg enzima/angiotenzin-converting enzyme inhibitors, Kt/V - indeks adekvatnosti dijalize/index of adequacy of dialysis

trofotometrijskom metodom (jedanput mesečno). Urea, kalcijum, neorganski fosfat određivani su spektrofotometrijskom metodom takođe jedanput mesečno, kao i kreatinin koji je određivan kinetičkom Jaffe reakcijom bez proteinizacije. Transferin i feritin određivani su imunohemiluminiscentnom metodom tromesečno kao i holesterol i gvožđe koje je određivano kolorimetrijskom metodom. Albumini i parathormon određivani su šestomesečno kao i C-reaktivni protein (CRP) koji je određivan imunoturbidimetrijskom metodom (referentne vrednosti 0–5 mg/l).

Indeks adekvatnosti dijalize (Kt/V) izračunat je po formuli Daugirdasa[16]:

$$Kt/V = -\ln(R - 0,008 \times t) + (4 - 3,5 \times R) \times UF/W$$

gde je: R = koncentracija uree posle hemodijalize/koncentracija uree pre hemodijalize, t = vreme trajanja hemodijalize, UF = ultrafiltracija, W = telesna težina na kraju hemodijalize

Indeks rezistencije na eritropoetin predstavlja količnik nedeljne Epo doze preračunate na kilogram telesne težine bolesnika i koncentracije hemoglobina:

$$ERI = \frac{\text{Epo doza U/kg/nedeljno}}{\text{Hb g/l}}$$

Na početku istraživanja dobijeni su podaci za sledeće varijable: starost bolesnika, trajanje hemodijalize, osnovna bolest, upotreba inhibitora angiotenzin-konvertujućeg enzima (ACEI). Hemoglobin, ERI i Epo doze su određivani svakog meseca, a ostale laboratorijske analize u januaru, aprilu, julu i oktobru tokom perioda praćenja bolesnika. Izuzetak su paratiroidni hormon (iPTH), CRP i albumin koji su mereni samo u aprilu i oktobru. Od pojedinačnih varijabli koje su izmerene više puta tokom godine formirane su godišnje aritmetičke sredine za svakog bolesnika koje su korišćene dalje u statističkoj analizi. Muški pol je označen sa 1 a ženski sa 2. Bolesnici koji su upotrebljavali ACEI su označeni 1 a ostali sa 0.

Vrednosti u tekstu i tabelama prikazane su kao aritmetička sredina (standardna devijacija) ili kao frekvencije za obeležja kategorija. Odabir testova i analiza zasnivao se na osnovnim principima statistike. Prvo je urađena deskriptivna statistika. Statistička značajnost, razlika srednjih vrednosti proce-

njena je primenom dvosmernog Studentovog t-testa, a razlika između frekvencija primenom χ^2 testa. Statistička značajnost procenjivana je na osnovu nivoa značajnosti $p < 0,05$. Korelaciona analiza je urađena upotrebom Pirsonovih koeficijenta između parametrijskih varijabli a u ostalim slučajevima Spirmanovim testom. Pokazala je povezanost ERI i drugih varijabli kao i potencionalnu kolinearnost između pojedinih varijabli ($r > 0,5$ ili $p > 0,5$).

Za utvrđivanje činilaca povezanih sa ERI korišćena je linearna regresiona analiza. Pri tome je ERI bila zavisna varijabla, a sve ostale varijable su testirane kao nezavisne varijable. Univarijantnom regresionom analizom odabrani su potencijalni prediktori povezani sa ERI ($p < 0,10$). Multivarijantna analiza je urađena metodom „korak po korak“ (stepwise) i omogućila je selekciju nezavisnih prediktora povezanih sa ERI. Dijagnostika kolinearnosti rađena je na osnovu korelacione analize i na osnovu posebnih testova (VIF, tolerance, eigenvalue, condition index). Celokupna statistička obrada podataka izvedena je primenom programskog paketa SPSS.

Rezultati

U **Tabeli 1** prikazane su karakteristike ispitane grupe bolesnika. Bolesnici su bili starijeg životnog doba, prosečne starosti 67,5 godina. Svi su lečeni najmanje 12 meseci ponavljanim hemodijalizama a prosečno vreme provedeno na hemodijalizi bilo je 43,9 meseci. Od 48 bolesnika, dva su imala antitela na hepatitis C virus (HCV), dok kod ostalih nisu otkriveni markeri virusa hepatitisa. Prosečan srednji arterijski pritisak bio je u granicama normalnog, a samo 16 bolesnika koristilo je inhibitore angiotenzin-konvertaze u terapiji hipertenzije. Prosečan indeks adekvatnosti hemodijalize, Kt/V, bio je u preporučenom opsegu.

U **Tabeli 2** prikazano je kretanje laboratorijskih parametara tokom godine dana ispitivanja. Aritmetička sredina koncentracije uree i kreatinina bila je u granicama prihvatljivim za ovu metodu lečenja. Vidljivo je da su koncentracije kalcijuma, fosfora i alkalne fosfataze bile u granicama normalnih vrednosti, dok su vrednosti parathormona bile povišene. Tokom godine ispitivanja nije

Tabela 2. Laboratorijski parametri izmereni tokom jednogodišnjeg ispitivanja
Table 2. Laboratory parameters measured during one-year follow up

	Januar <i>January</i>	April <i>April</i>	Jul <i>July</i>	Oktoibar <i>October</i>
Hemoglobin, g/l/ <i>Hemoglobin, g/l</i>	110,2(12,1)	116,7 (15,2)	118,9 (12,8)	117,4 (11,8)
Hematokrit, %/ <i>Hematocrit, %</i>	34,3 (4,1)	36 (4,8)	36,8 (4,2)	34,5 (3,9)
Urea, mmol/l/ <i>Urea, mmol/l</i>	21,8 (7,1)	21,4 (4,6)	19,9 (2,5)	18,6 (3,4)
Kreatinin, µmol/l/ <i>Creatinine, µmol/l</i>	695,9 (145)	717,2 (121,6)	705,7 (158)	626,6 (111,5)*
Kalcijum, mmol/l/ <i>Calcium, mmol/l</i>	2,5 (0,3)	2,5 (0,2)	2,4 (0,2)	2,4 (0,2)
Fosfor, mmol/l/ <i>Phosphorus, mmol/l</i>	1,3 (0,4)	1,3 (0,4)	1,3 (0,4)	1,4 (0,4)
Alkalna fosfataza, IU/L/ <i>Alkaline phosphatase, IU/L</i>	81,9 (36,7)	87,2 (40,2)	85 (44,8)	87,5 (41,9)
PTH, pg/ml	–	189,7 (510,6)	235,1 (543,7)	–
CRP, mg/l		10,1 (19,4)	–	10,5 (18)
Albumini, g/l/ <i>Albumins, g/l</i>		39,88 (2,5)	–	38,75 (2,9)
Gvožđe, µmol/l/ <i>Iron, µmol/l</i>	15,1 (7,4)	15,8 (6,2)	17,4 (6,3)	20,1 (7,5)**
Transferin, g/l/ <i>Transferrin, g/l</i>	1,4 (0,2)	1,5 (0,2)	1,4 (0,2)	1,4 (0,2)
Saturacija transferina, %/ <i>Saturation of transferrin, %</i>	38,5 (19,7)	46,5 (18,6)	46,6 (25,68)	49,3 (12,3)**
Feritin, ng/ml/ <i>Ferritin, ng/ml</i>	1346,7 (688,9)	1600,7 (601,8)	1634,1 (563,3)	1589,6 (550,3)

*p = 0,003 u odnosu na vrednost u aprilu/*compared to the value in April*, **p < 0,05 u odnosu na vrednost u januaru/*compared to the value in January*, PTH - paratiroidni hormon/*parathyroid hormone*, CRP - C-reaktivni protein/*C-reactive protein*

zabeležena značajna promena u koncentraciji ovih parametara. Koncentracije gvožđa i transferina, kao i saturacija transferina bile su u preporučenim intervalima, koncentracija feritina kretala se iznad preporučenih vrednosti.

U **Tabeli 3** je uporedo prikazana prosečna koncentracija i opseg izmerenih koncentracija hemoglobina, nedeljne Epo doze po kilogramu telesne težine, te ERI u četiri meseca ispitivanja i za celu godinu. Opseg individualnih vrednosti i hemoglobina i prosečne doze Epo pokazuju individualne razlike, ali su one bile mnogo veće za dozu Epo nego za koncentraciju hemoglobina. Upravo tim podešavanjima doze Epo postignuto je održavanje ciljane koncentracije hemoglobina. Zbog velikih

individualnih razlika u dozi Epo i razlike između individualnih vrednosti ERI bile su velike, pa je najniža individualna vrednost ERI bila 0,13 U/kg/ nedeljno/g/l, a najviša čak 2,46 U/kg/ nedeljno/g/l.

Na **Grafikonu 1** prikazana je raspodela bolesnika prema prosečnoj koncentraciji hemoglobina i broj bolesnika kod kojih je koncentracija hemoglobina bar jedanput tokom godine dana bila ispod 100 g/l. Iako je prosečna koncentracija hemoglobina bila kod 46 od 48 bolesnika iznad 100 g/l, kod 19 bolesnika je tokom 2010. godine ova koncentracija jedan do 9 puta bila manja od 100 g/l. Kao što se i očekivalo, ovako niska vrednost hemoglobina češće se javljala kod bolesnika sa prosečnom koncentracijom hemoglobina manjom od

Tabela 3. Koncentracije hemoglobina, nedeljne doze Epo i ERI tokom jednogodišnjeg ispitivanja
Table 3. Hemoglobin level, weekly doses of human recombinant erythropoietin (Epo) and erythropoietin resistance index (ERI) during one-year follow up

Mesec/ <i>Month</i>	Hemoglobin, g/l <i>Hemoglobin, g/l</i>	Doza rHuEPO, U/kg/ nedeljno <i>Dose of rHuEPO, U/kg/week</i>	ERI, U/kg/ nedeljno/g/l <i>ERI, U/kg/weekly/g/l</i>
Januar/ <i>January</i>	110,2 (12,2) 86-139	87,9 (53,9) 22-244	0,83 (0,57) 0,19-2,46
April/ <i>April</i>	116,7 (15,2)* 87-138	90,5 (51,5) 24-224	0,79 (0,47) 0,19-2,44
Jul/ <i>July</i>	118,9 (12,8)* 94-140	70,4 (50,9)** 22-210	0,61 (0,51)* 0,17-2,14
Oktoibar/ <i>October</i>	117,4 (11,8)* 93-139	68,7 (43,6)** 15-220	0,59 (0,42)* 0,13-2,2
Za celu godinu/ <i>For the whole year</i>	116,1 (7,4)	79,5 (45,8)	0,70 (0,52)

Vrednosti predstavljaju aritmetičku sredinu (standardna devijacija) i opseg/*The values present mean and range.*

rHuEpo – rekombinantni humani eritropoetin/*recombinant human erythropoietin*; *p < 0,05 u odnosu na vrednost u januaru/*compared to the value in January*; **p < 0,05 u odnosu na vrednost u aprilu/*compared to the value in April*

Tabela 4. Rezultati multivarijantne linearne regresione analize (korak po korak) kojom su izdvojene varijable statistički značajno povezane sa indeksom rezistencije na eritropoetin

Table 4. Results of multivariate linear regression analysis (stepwise) which found out variables significantly associated with the erythropoietin resistance index

Standardizovane vrednosti (z-score) <i>Standardized values</i>	Koeficijent <i>Coefficient</i>	Interval poverenja <i>Confidence interval</i>	p
zEPO doza/dose	0,33	0,31 do 0,34	< 0,01
zHb	-0,04	-0,95 do -0,03	< 0,01
zCRP	0,02	0,01 do 0,03	< 0,01

EPO - humani rekombinantni eritropoetin/human recombinant erythropoietin, CRP - C-reaktivni protein/C-reactive protein

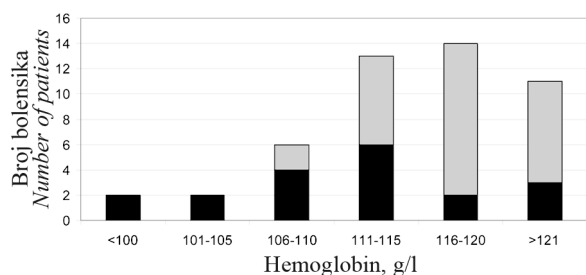
110 g/l. Kod 7 bolesnika koncentracija hemoglobina ispod 100 g/l zabeležena je tri i više puta i to su bolesnici koji se mogu smatrati bolesnicima sa slabim odgovorom na Epo.

Analiza individualnih vrednosti ERI pokazala je velike razlike u vrednosti ovog indeksa između pojedinih bolesnika. Izračunata je prosečna vrednost ERI za svakog bolesnika na osnovu 12 vrednosti dobijenih tokom 12 posmatranih meseci. Pokazalo se da je najniža prosečna vrednost ERI bila 0,29 U/kg/nedeljno/g/l, a najviša vrednost, zabeležena kod jednog bolesnika, bila je 2,14 U/kg/nedeljno/g/l. **Grafikon 2** prikazuje distribuciju bolesnika prema veličini ERI. Vidi se da je 14 (30%) bolesnika imalo prosečan ERI ispod 0,5 U/kg/nedeljno/g/l, što ukazuje na dobar odgovor na Epo. Međutim, 19 (40%) bolesnika imalo je ERI iznad 0,7 U/kg/nedeljno/g/l, a čak 10 (21%) iznad 0,9 U/kg/nedeljno/g/l. To ukazuje da procenat bolesnika sa slabim odgovorom na Epo nije zanemarljiv.

Korelaciona analiza je, kao što se i očekivalo, pokazala da postoji jaka povezanost između ERI i doze Epo (Spearman, $\rho = 0,98$; $p < 0,01$), ERI i hemoglobina ($\rho = -0,60$; $p < 0,01$), ali i ERI i Kt/V ($\rho = -0,45$; $p < 0,01$) i ERI i indeks telesne mase (BMI) ($\rho = -0,38$; $p < 0,01$). Hemoglobin je statistički značajno korelirao sa Epo dozom ($\rho = 0,48$; $p < 0,01$). Epo doza je statistički značajno korelirala pored ERI i hemoglobina i sa Kt/V ($\rho = 0,50$;

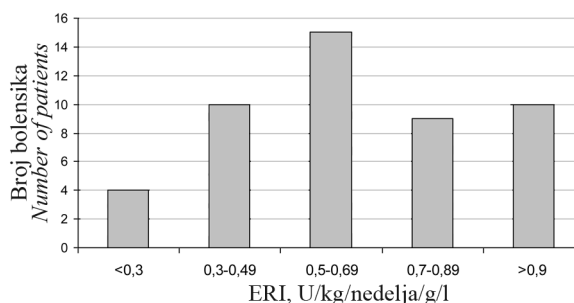
$p < 0,01$) i BMI ($\rho = -0,43$; $p < 0,01$). Statistički značajne korelacije postojale su između serumskog gvožđa i feritina (Pearson; $r = 0,99$; $p < 0,01$), saturacije transferina gvoždem i feritina ($r = 0,52$; $p < 0,01$), godina i kreatinina ($r = -0,55$; $p < 0,01$), godina i *mean arterial pressure* (MAP) ($r = -0,43$; $p < 0,01$), MAP i kreatinina ($r = 0,43$; $p < 0,01$), BMI i Kt/V ($r = -0,44$; $p < 0,01$) i MAP i albumina ($r = 0,38$; $p < 0,01$). Takođe, statistički značajne korelacije postojale su između meseci provedenih na dijalizi i BMI ($\rho = -0,51$; $p < 0,01$), meseci provedenih na dijalizi i nivoa kalcijuma u serumu ($\rho = 0,44$; $p < 0,01$), Kt/V i CRP ($\rho = -0,51$; $p < 0,01$), albumina i CRP ($\rho = -0,30$; $p < 0,05$), CRP i nivoa gvožđa u serumu ($\rho = -0,44$; $p < 0,01$), Ca i iPTH ($\rho = -0,54$; $p < 0,01$).

Da bi se otkrili činioci koji utiču na terapijski odgovor tokom lečenja eritropoetinom urađena je linearna regresiona analiza. Zavisna varijabla je bio ERI a ostale (demografske, kliničke i laboratorijske) testirane su kao nezavisne varijable. Univarijantnom linearnom regresionom analizom izdvojene su starost, Epo doza, indeks adekvatnosti hemodijalize Kt/V, CRP, koncentracija hemoglobina, albumina, feritina, transferina i alkalne fosfataze, saturacija transferina i BMI kao potencijalni prediktori koji su povezani sa ERI. Korelaciona dijagnostika u regresionom modelu pokazala je moguće probleme u vezi sa kolinearnosti CRP pa je



Grafikon 1. Distribucija bolesnika prema prosečnoj koncentraciji hemoglobina i broj bolesnika kod kojih je tokom jednogodišnjeg ispitivanja bar jedanput koncentracija hemoglobina bila ispod 100 g/l (tamniji deo stubića)

Graph 1. Distribution of patients according to the mean concentration of hemoglobin and number of patients with at least one hemoglobin concentration value below 100 g/l (the darker part of columns)



Grafikon 2. Distribucija bolesnika prema prosečnoj vrednosti indeksa rezistencije na eritropoetin izračunatoj na osnovu 12 vrednosti zabeleženih u toku 12 meseci ispitivanja

Graph 2. Distribution of patients according to the mean value of erythropoietin resistance index calculated from 12 values recorded in the 12 follow-up months

urađena transformacija varijabli u standardizovane vrednosti (*z-score*) čime su problemi rešeni. Pri tome je koeficijent determinacije R^2 iznosio 0,99 što znači da je model objasnio gotovo celokupni varijabilitet te da se radi o vrlo jakom modelu. U **Tabeli 4** prikazani su rezultati multivarijantne linearne regresione analize koja je pokazala da su Epo doza, hemoglobin i CRP nezavisni prediktori povezani sa ERI. Kako je ERI količnik Epo doze i hemoglobina, jasna je njihova povezanost sa ERI, a u ovom modelu su upotrebljeni radi realnije analize (*adjusting*). Stoga je regresiona analiza otkrila jedino povezanost CRP sa ERI.

Diskusija

Istraživanja u ovom radu obuhvatila su 48 bolesnika koji su lečeni hroničnim hemodijalizama u *Fresenius Medical Care* centru za dijalizu u Šamcu. Svi bolesnici lečeni eritropoetinom praćeni su godinu dana i tokom tog perioda analiziran je njihov odgovor na lečenje, kao i činioci koji utiču na oporavak. Kod svih bolesnika je postignuta ciljna koncentracija hemoglobina 100-120 g/l ali je prosečna nedeljna doza Epo za pojedine bolesnike bila od 64,8 do 94,1 U/kg/nedeljno. ERI pojedinih bolesnika takođe je pokazao velike individualne varijacije i kretao se od 0,13 U/kg/nedeljno/g/l do 2,46 U/kg/nedeljno/g/l. Devetnaest (40%) bolesnika imalo je prosečan ERI iznad 0,7 U/kg/nedeljno/g/l, a čak 10 (21%) iznad 0,9 U/kg/nedeljno/g/l, što ukazuje da procenat bolesnika sa slabim odgovorom na Epo nije zanemarljiv. Multivarijantna regresiona analiza pokazala je da je CRP značajno povezan sa ERI.

Anemija je jedna od karakteristika i redovan pratilac HBI koji značajno utiče na kvalitet života, obolevanje i smrtnost bolesnika [17]. Iako je anemija u HBI multifaktorski poremećaj, uvođenje Epo omogućilo je njeno uspešno lečenje. Prema preporuci poznatih svetskih vodiča o lečenju anemije u HBI, ciljna vrednost koncentracije hemoglobina koju treba postići je 11-12,5 g/dl [11,18]. Međutim, klinička iskustva pokazala su da postizanje i održavanje tog ciljnog opsega hemoglobina nije jednostavno. S jedne strane, postoje velike varijacije u odgovoru na lečenje, a zbog toga i velike varijacije u dozi Epo potrebnoj da se postigne odgovarajući oporavak [19-21]. S druge strane, opisane su značajne varijacije u koncentraciji hemoglobina pojedinih bolesnika u funkciji vremena pa samo mali procenat bolesnika održava stabilnu ciljnu koncentraciju hemoglobina [14,15,22]. Posebna pažnja posvećena je istraživanjima nedovoljnog odgovora na lečenje Epo i činiocima koji uzrokuju taj neadekvatan odgovor [19,23].

Ispitivanjem parametara anemije kod naših bolesnika u toku 2010. godine pokazano je da su prosečne koncentracije hemoglobina i hematokrita bile u granicama normalnih vrednosti. Prosečna koncentracija hemoglobina kretala se između 110,2 i 118,9 g/l. Tokom cele godine prosečna koncentracija he-

moglobina za celu grupu bila je iznad 110 g/l, što je u skladu sa preporukom Evropskog vodiča za lečenje anemije [11]. Povremeno se koncentracija hemoglobina kod pojedinih bolesnika smanjila ispod 100 g/l ali je neprekidnim podešavanjem Epo doze prosečna koncentracija hemoglobina bila u ciljnom opsegu. Upravo zbog tog neprekidnog podešavanja Epo doze prema koncentraciji hemoglobina, nedeljna Epo doza za pojedine bolesnike široko je varirala, a prosečna nedeljna doza Epo kretala se od 64,8 do 90,5 U/kg. Održavanje ciljne koncentracije hemoglobina postignuto je i redovnom kontrolom koncentracije gvožđa i feritina u serumu i podešavanjem doze gvožđa koje su bolesnici dobijali. To je omogućilo da se spreči sideropenija, kao glavni uzrok lošeg odgovora na Epo, ali i preopterećenje organizma gvožđem. Značaj održavanja koncentracije hemoglobina u ciljnom opsegu istakli su brojni autori. Održavanje hemoglobina ispod 100 g/l kao i česte varijacije sa padom koncentracije hemoglobina ispod 100g/l povezane su sa povećanim rizikom od smrtnosti [24-27]. S druge strane, pokušaji da se ciljni hemoglobin poveća pokazali su da je povećanje hemoglobina preko 130 g/l takođe povezano sa većim mortalitetom [26,28-31]. Zbog toga su razumljivi rezultati većeg broja autora koji su pokazali da je i varijacija hemoglobina u funkciji vremena povezana sa povećanom smrtnošću bolesnika, češćim komorbiditetima i češćim hospitalizacijama [14,15,31,32]. Da bi se koncentracija hemoglobina održavala u preporučenom, relativno uskom ciljnom opsegu, neophodne su redovne kontrole hemoglobina ovih bolesnika i podešavanje doze Epo.

Odgovor na terapiju eritropoetinom i varijacije u tom odgovoru procenjeni su u ovom radu pomoću ERI koji predstavlja odnos između Epo doze i odgovora izraženog koncentracijom hemoglobina. Pokazane su velike individualne varijacije u vrednosti ovog indeksa, što je u skladu sa brojnim studijama, koje su obuhvatile desetine hiljada bolesnika, i pokazale da su različiti bolesnici zahtevali različite Epo doze za održavanje ciljne vrednosti hemoglobina [14,15,24,31].

Da bi se otkrili činioci koji utiču na terapijski odgovor tokom lečenja eritropoetinom, urađena je linearna regresiona analiza. Multivarijantna linearna regresiona analiza izdvojila je CRP kao jedinu varijablu značajno povezanu sa ERI. Inflamacija i malnutricija su dobro poznati pratioci HBI, a veći broj radova je pokazao da je zapaljenje jedan od činilaca koji smanjuje odgovor na eritropoetin. U velikoj studiji koja je obuhvatila 1 754 bolesnika lečena hemodijalizama dokazana je visoko značajna korelacija između CRP i doze eritropoetina [33]. Slično je potvrdilo nekoliko manjih studija [34,35], kao i studija Locatellija i saradnika koja je obuhvatila 677 bolesnika [36]. Naši rezultati su u skladu sa svim ovim rezultatima, jer se CRP pokazao kao značajan nezavisni prediktor slabog odgovora na eritropoetin. S tim u skladu je i nalaz povezanosti između albumina i indeksa re-

zistencije, jer su albumini ne samo marker pothranjenosti nego i zapaljenja. Pored malnutricije i inflamacije kao prediktora slabog odgovora na Epo, opisani su i nedostatak gvožđa, hiperparatiroidizam, postojanje dijaliznog katetera, mnoga komorbidna stanja [23,34,36,37]. Zavisnost ERI od gvožđa nije pokazana u ovom radu najverovatnije zbog dobre kontrole feremije.

Vrednost ove studije je jednogodišnje praćenje odgovora bolesnika na Epo, što je duže nego u većini drugih studija [24,29,38]. Duže praćenje omogućava da se dobiju verodostojniji podaci o varijacijama hemoglobina, ali i o odgovoru na Epo. Nedostaci studije su što nisu bili uključeni bolesnici kod kojih su postojali dobro poznati uzroci anemija – krvarenja, operacije, hronične infekcije, maligne bolesti. Zbog toga se dobijeni rezultati ne mogu generalizovati. Međutim, ovakav izbor bolesnika omogućio je da se proverí da li i u populaciji bolesnika bez ovih dobro poznatih uzroka anemije postoje varijacije u hemoglobinu i razlike u odgovoru na Epo. Rezultati su potvrdili da ove varijacije postoje i da su uslovljene, pre svega, zapa-

ljenjem, dobro poznatim pratiocem terminalne insuficijencije bubrega.

Zaključak

Istraživanja sprovedena u ovom radu potvrdila su da su za postizanje i održavanje ciljne vrednosti hemoglobina kod pojedinih bolesnika bile neophodne različite doze humanog rekombinantnog eritropoetina, kao i neprekidno podešavanje doze. To je pokazalo da postoje značajne individualne razlike u odgovoru na eritropoetin koji je procenjen pomoću indeksa rezistencije na eritropoetin. C-reaktivni protein izdvojen je kao faktor značajno povezan sa indeksom rezistencije na eritropoetin. Zbog toga je neophodno da se neprekidno sprovodi prevencija i uporno lečenje svih komorbidnih stanja koja se javljaju kod bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega, posebno onih koja doprinose nastanku malnutricije i zapaljenja. Ove mere vodiće poboljšanju lečenja anemije koje ima značajan uticaj na kvalitet života, obolevanje, hospitalizaciju i preživljavanje bolesnika.

Literatura

- Oštrić V, Savin M. Hronična insuficijencija bubrega. U: Djukanović Lj, Oštrić V, urednici. Bolesti bubrega. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1999. str. 483-543.
- Pavlovic-Kentera V, Clemons GK, Djukanovic Lj. Pathophysiology of erythropoiesis in renal diseases. In: Jelkman W, Gross AJ, eds. Erythropoietin. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 92-110.
- Esbach JW. Erythropoietin 1991: an overview. *Am J Kidney Dis* 1991;18(Suppl 4):3-8.
- Loya F, Yang Y, Lin H. Transgenic mice carrying the erythropoietin gene promoter linked to lacZ express the reporter in proximal convoluted tubule cells after hypoxia. *Blood* 1994;84:1831-6.
- Radtke HW. Serum erythropoietin concentration in chronic renal failure: relationship to degree of anemia and excretory renal function. *Blood* 1979;54:877.
- Winerals CG, Oliver DO, Pippard MJ, Reid C, Dowing MR, Cotes PM. Effect of human erythropoietin derived from recombinant DNA on the anemia of patients maintained by chronic haemodialysis. *Lancet* 1986;2:1175-8.
- Eschbach JW, Egrie JC, Dowing MR, Bromne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin: results of a combined phase I and II clinical trial. *N Engl J Med* 1987;316:73-8.
- Suzuki M, Hirose Y, Hiroshima K, Arakawa M, Odaka M, Ogura Y, et al. Dose-finding, double blind, clinical trial of recombinant human erythropoietin (Chugai) in Japanese patients with end-stage renal disease. *Contrib Nephrol* 1989;76:179-92.
- Frenken LAM, Verberckmoes R, Michielson P, Koene RAP. Efficacy and tolerance of treatment with recombinant human erythropoietin in chronic renal failure (pre-dialysis) patients. *Nephrol Dial Transplant* 1989;4:782-6.
- Scigalla P, Bonzel KE, Bulla M, Burghard R, Dippel J, Geisert J, et al. Therapy of renal anemia with recombinant human erythropoietin in children with end-stage renal disease. *Contrib Nephrol* 1989;76:227-41.
- Locatelli F, Aljama P, Bárány P, Canaud B, Carrera F, Eckardt KU, et al. European best practice guidelines working group: revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(Suppl 2):ii1-ii47.
- Kleinman KS, Schweitzer SU, Perdue ST. The use of recombinant human erythropoietin in the correction of anemia in predialysis patients and its effect on renal function: a double blind placebo-controlled trial. *Am J Kidney Dis* 1989;14:486-95.
- Djukanović Lj, Clemons GK, Ležaić V, Radmilović A, Milosavljević M, Gajić M, et al. Individual differences in the response to recombinant human erythropoietin therapy. *Nefrologia* 1994;14:316-21.
- Fishbane S, Berns JS. Hemoglobin cycling in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Kidney Int* 2005;68:1337-43.
- Ebben JP, Gilbertson DT, Foley RN, Collins AJ. Hemoglobin level variability: associations with comorbidity, intercurrent events, and hospitalizations. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:1205-10.
- Daugirdas JT. Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: an analysis of error. *J Am Soc Nephrol* 1993;4:1205-13.
- Cavill J, Williams JD. Benefits of recombinant human erythropoietin. *Lancet* 2002;360:1606-7.
- National Kidney Foundation I. Kidney-dialysis outcomes quality initiative: K/DOQI Clinical practice guidelines: anemia of chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2006;47(Suppl 3):S1-S146.
- Li S, Foley RN, Gilbertson DT, Liu J, Collins AJ. Clinical factors associated with achieving K/DOQI hemoglobin targets in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2003;35:399-405.
- Cotter D, Zhang Y, Thamer M, Kaufman J, Hernan MA. The effect of epoetin dose on hematocrit. *Kidney Int* 2008;73:347-53.

21. Lacson E Jr, Ofsthun N, Lazarus JM. Effect of variability in anemia management on hemoglobin outcomes in ESRD. *Am J Kidney Dis* 2003;41:111-24.
22. De Meester J, Maes B, De Vriese A, De Moor B, Donck J, Helbert M, et al. Fluctuations of haemoglobinaemia in chronic haemodialysis patients. *Acta Clin Belg* 2011;66(2):123-8.
23. Kalantar-Zadeh K, Lee GH, Miller JE, Streja E, Jing J, Robertson JA, et al. Predictors of hyporesponsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2009;53(5):823-34.
24. Gilbertson DT, Peng Y, Bradbury B, Ebben JP, Collins JA. Hemoglobin level variability: anemia management among variability groups. *Am J Nephrol* 2009;30:491-8.
25. Kilpatrick RD, Critchlow CW, Fishbane S, Besarab A, Stehman-Breen C, Krishnan M, et al. Greater epoetin alfa responsiveness is associated with improved survival in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1077-83.
26. Kainz A, Mayer B, Kramar R, Oberbauer R. Association of ESA hypo-responsiveness and haemoglobin variability with mortality in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25(11):3701-6.
27. Fukuma S, Yamaguchi T, Hashimoto S, Nakai S, Iseki K, Tsubakihara Y, et al. Erythropoiesis-stimulating agent responsiveness and mortality in hemodialysis patients: results from a cohort study from the dialysis registry in Japan. *Am J Kidney Dis* 2012;59(1):108-16.
28. Phrommintikul A, Haas SJ, Elsie M, Krum H. Mortality and target haemoglobin concentrations in anaemic patients with chronic kidney disease treated with erythropoietin: a meta-analysis. *Lancet* 2007;369:381-8.
29. Regidor DL, Kopple JD, Kovesdy CP, Kilpatrick RD, McAllister CJ, Aronovitz J, et al. Associations between changes in hemoglobin and administered erythropoiesis-stimulating agent and survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1181-91.
30. Drüeke TB, Locatelli F, Clyne N, Eckardt KU, Macdougall IC, Tsakiris D, et al. CREATE Investigators. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med* 2006;355:2071-84.
31. Collins AJ, Brenner RM, Ofman JJ, Chi EM, Stuccio-White N, Krishnan M, et al. Epoetin alfa use in patients with ESRD: An analysis of recent US prescribing patterns and hemoglobin outcomes. *Am J Kidney Dis* 2005;46:481-8.
32. Boudville NC, Djurdjev O, Macdougall IC, de Francisco AL, Deray G, Besarab A, et al. Hemoglobin variability in nondialysis chronic kidney disease: examining the association with mortality. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1176-82.
33. Bradbury BD, Critchlow CW, Weir MR, Stewart R, Krishnan M, Hakim RH. Impact of elevated C-reactive protein levels on erythropoiesis stimulating agent (ESA) dose and responsiveness in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:919-92.
34. Lazarević T, Stojimirović B, Poskurica M, Lazarević M, Mitrović N, Stolić R. Chronic inflammation, oxidative stress and effects of erythropoietin in end-stage renal disease patients. [Serbian]. *Med Pregl* 2007;60(Suppl 2):109-13.
35. Gunnell J, Yeun JY, Depner TA, Kaysen GA. Acute-phase response predicts erythropoietin resistance in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999;33:63-72.
36. Locatelli F, Andrulli S, Memoli B, Maffei C, Del VL, Aterini S, et al. Nutritional-inflammation status and resistance to erythropoietin therapy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:991-8.
37. Abe M, Okada K, Maruyama T, Maruyama N, Matsumoto K, Soma M. Relationship between erythropoietin responsiveness, insulin resistance, and malnutrition-inflammation-atherosclerosis (MIA) syndrome in hemodialysis patients with diabetes. *Int J Artif Organs* 2011;34(1):16-25.
38. Streja E, Kovesdy CP, Greenland S, Kopple JD, McAllister CJ, Nissenson AR, et al. Erythropoietin, iron depletion, and relative thrombocytosis: a possible explanation for hemoglobin-survival paradox in hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2008;52:727-36.
- Rad je primljen 12. VI 2012.
Recenziran 13. XII 2012.
Prihvaćen za štampu 20. XII 2012.
BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:3-4:130-137.