

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“IULIU HAȚIEGANU”
CLUJ NAPOCA**

TEZĂ DE DOCTORAT

**ANEMIA ÎN INSUFICIENȚA RENALĂ CRONICĂ:
RELAȚIA CU INFLAMAȚIA ȘI STRESUL OXIDATIV ȘI
ROLUL ÎN PROGRESIA BOLII RENALE CRONICE**

Rezumat

Doctorand
ANCA RUSU

Conducător științific
Prof. Dr. MIRELA
GHERMAN – CĂPRIOARĂ

2009

Cuprins

1. Introducere.....	p. 3
2. Cuvinte cheie.....	p.3
3. Contribuții personale.....	p. 4
3.1 Corelația unor markeri ai inflamației cu anemia și răspunsul la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic.....	p. 4
3.1.1 Obiective.....	p. 4
3.1.2. Material și metodă.....	p. 4
3.1.3 Rezultate.....	p. 5
3.1.4 Discuții.....	p. 8
3.2 Corelația unor markeri de stress oxidativ cu anemia și răspunsul la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic.....	p.9
3.2.1 Obiective.....	p.9
3.2.2 Material și metodă.....	p.9
3.2.3 Rezultate.....	p.11
3.2.4 Discuții.....	p.12
3.3 Rolul anemiei în progresia BCR.....	p.13
3.3.1 Obiective.....	p.13
3.3.2 Material și metodă.....	p.13
3.3.3 Rezultate.....	p.14
3.3.4 Discuții.....	p.15
3.4 Concluzii.....	p.15
4. Referințe.....	p.16

1. Introducere

Anemia reprezintă o cauză importantă de morbiditate și mortalitate la pacienții cu insuficiență renală cronică în general și în particular la pacienții hemodializați cronic.

Tratamentul cu agenți stimulatori ai eritropoezei a îmbunătățit semnificativ anemia și calitatea vieții la pacienții cu insuficiență renală cronică. Cu toate acestea s-a constatat că aproximativ 12% din pacienții hemodializați cronic prezintă răspuns nesatisfăcător la tratamentul cu eritropoetină (1) necesitând doze crescute de eritropoetină ceea ce duce la o creștere semnificativă a costurilor, oricum mari, ale tratamentului la acești pacienți; în ultimii ani s-a studiat din ce în ce mai mult rolul inflamației și al stresului oxidativ în patogeneza și tratamentul anemiei la pacienții dializați cronic reflectând eforturile care se fac permanent pentru îmbunătățirea tratamentului și a calității vieții la pacienții cu boală cronică de rinichi. A fost dovedit rolul unor citokine proinflamatorii și a unor proteine de fază acută în rezistența la rHuEPO (1). S-au găsit însă *puține studii în literatură* referitoare la *rolul hepcidinei în anemia pacienților hemodializați cronic*(2-4) și *nu s-au găsit date în literatura studiată referitoare la posibili agenți terapeutici* care ar putea reduce sinteza hepatică de hepcidină. Câteva studii experimentale recente, din anii 2006-2007 au arătat *rolul IL17 în inhibarea eritropoezei medulare* (5-7), *rolul expresiei crescute a TLR4* care induce *apoptoza progenitorilor eritroizi medulari la șobolanii cu anemie Fanconi* (8), dar *nu s-au găsit studii clinice pe pacienți dializați care să arate rolul lor în anemia renală sau rezistența la tratamentul cu rHuEPO*. În ceea ce privește *stresul oxidativ și anemia renală*, rezultatele din literatură sunt contradictorii, studiile se referă *mai mult la hemoliza indusă de radicalii de oxigen și mai puțin la alte mecanisme* (9-12); s-a încercat asocierea unor agenți antioxidanți ca *vitamina E* la tratamentul anemiei dar *mai mult sub formă de vitamina E încorporată în membranele de dializă și mai puțin în administrare per os* (13) și s-a urmărit în special *efectul asupra reducerii stresului oxidativ la pacienții hemodializați și mai puțin efectul posibil de ameliorare a răspunsului la rHuEPO la pacienții cu capacitate antioxidantă scăzută*.

Lucrarea de față își propune să aducă elemente noi în înțelegerea mecanismelor patogenetice ale anemiei și rezistenței la tratamentul cu rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, precum și în ameliorarea răspunsului la rHuEPO și își fixează următoarele obiective:

a) evaluarea relației *IL17, a hepcidinei și a expresiei TLR4 cu anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, subiecte puțin studiate până în prezent;*

b) evaluarea relației *stresului oxidativ crescut și a capacității antioxidante scăzute cu anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic fără hemoliză;*

c) evaluarea efectului *tratamentului adjuvant cu atorvastatin asupra valorilor hepcidinei și răspunsului la rHuEPO, efect care nu a fost descris până în prezent în literatura studiată;*

d) studiul efectului *tratamentului adjuvant cu doze mici de vitamina E, administrată per os asupra ameliorării răspunsului la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic fără hemoliză și cu capacitate antioxidantă scăzută.*

2. Cuvinte cheie: anemie, hemodializă cronică, răspuns nesatisfăcător la rHuEPO, interleukina 17, hepcidină, TLR4, superoxid dismutaza eritrocitară, atorvastatin, vitamina E

3. Contribuții personale

3.1 Corelația unor markeri ai inflamației cu anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic

3.1.1. Obiective principale

- evaluarea corelației CRP, IL17, hepcidinei, TLR4 cu anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic
- evaluarea efectului tratamentului adjuvant cu atorvastatin asupra anemiei și răspunsului la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic

3.1.2. Material și metodă

Au fost incluși în studiu 69 de pacienți cu boală cronică de rinichi tratați cu hemodializă cronică și rHuEPO de minim șase luni la Centrul de Dializă Nefromed Cluj Napoca. Au fost excluși pacienții cu: hemoragii oculute sau clinic manifeste în ultimele trei luni, hemoliză, deficit absolut de fier (feritină <100 ng/dl + saturația transferinei <20%), deficit de vitamina B12 și/sau acid folic (anemie macrocitară), neoplazii, hiperparatiroidism secundar sever (PTH >400 pg/dl), doză insuficientă de dializă (Kt/V <1.2), ciroză cu hipersplenism, insuficiență cardiacă congestivă, tratament cu statine în ultimele trei luni, participanți la alte studii în paralel, pacienți tratați cu alt tip de rHuEPO decât beta rHuEPO.

Un număr de 14 voluntari sănătoși au fost incluși în lotul martor.

S-au determinat valorile hemoglobinei, hematocritului, valorile serice ale sideremiei, feritinei, la începutul studiului și apoi lunar. Saturația transferinei s-a determinat la începutul studiului și la 3 luni. Determinările biologice enumerate s-au efectuat la Laborator SYNEVO Cluj Napoca prin colaborare și cu resurse financiare de la Centrul de Dializă Nefromed Cluj Napoca.

Deficitul funcțional de fier s-a definit ca feritina >100 ng/dl cu saturația transferinei < 20%.

S-au notat dozele administrate de rHuEPO (U/kgc/săptămână) la începutul studiului și apoi lunar și s-a calculat indicele de răspuns la rHuEPO (UrHuEPO/săptămână/hematocrit). Răspunsul nesatisfăcător la rHuEPO s-a definit ca indice de răspuns la rHuEPO >200.

S-au determinat următorii markeri ai microinflamației la pacienții hemodializați cronic: CRP utilizând kit ELISA la începutul studiului și apoi lunar, hepcidina serică utilizând kit ELISA la începutul și la finalul studiului, IL17 serică utilizând kit ELISA la începutul studiului, expresia TLR4 la nivelul monocitelor periferice prin flowcitometrie, utilizând anticorpi monoclonali anti TLR4 marcați cu carboxifluoresceină, la un număr de 30 de pacienți hemodializați cronic, la începutul studiului.

La lotul martor s-au determinat : CRP, IL17, hepcidina serică și expresia TLR4 la nivelul monocitelor periferice.

Determinarea CRP, IL17, hepcidinei și expresiei TLR4 a fost finanțată de către CNCISIS prin grant tip TD, cod proiect TD-111, număr contract 584 din octombrie 2007 ; probele au fost prelucrate la Laboratorul de Imunologie al Spitalului Clinic Județean de Urgență Cluj.

S-a urmărit corelația CRP, hepcidinei, IL17 și TLR4 cu hemoglobina, feritina, saturația transferinei, doza de rHuEPO și indicele de răspuns la rHuEPO. Pacienții au

fost stratificați ulterior în funcție de Hb, indicele de răspuns la rHuEPO și hepcidină în trei grupuri :

- grupul A : pacienți cu indice de răspuns la rHuEPO <200
- grupul B : pacienți cu indice de răspuns la rHuEPO >200, hepcidina >200 pg/dl, tratați cu atorvastatin 10 mg/zi timp de 6 săptămâni + beta rHuEPO s.c.
- grupul C : pacienți cu indice de răspuns la rHuEPO >200, hepcidina >200 pg/dl, tratați cu beta rHuEPO, fără atorvastatin

Cele trei grupuri au fost analizate comparativ sub raportul relației dintre hepcidină și hemoglobină, răspunsul la rHuEPO și saturația transferinei înainte și după administrare de atorvastatin.

Datele au fost analizate statistic cu programul Sigma Stat utilizând testul t, regresia liniară, testul ANOVA și Kruskal Wallis. Rezultatele sunt redată ca media±SD.

3.1.3. Rezultate

Tabel 1. Caracteristici generale ale pacienților hemodializați cronic din lotul studiat

	Media ± SD
Vârsta (ani)	59 ± 11
Vechimea în dializă (ani)	4.8 ± 1.1
KT/V	1.35 ± 0.1
IMC (kg/mp)	22.9 ± 1.7

Tabel 2. Parametrii biologici ai pacienților hemodializați cronic din lotul studiat, doza de rHuEPO și indicele de răspuns la rHuEPO

	Media ± SD
Hb (g/dl)	10.6 ± 1.7
Ht (%)	32.5 ± 4.6
Sideremie (microg/dl)	61.1 ± 3.2
Feritina (ng/ml)	767.2 ± 47.3
Saturația transferinei (%)	27.1 ± 9.4
CRP (mg/l)	7.2 ± 3.4
IL 17 (pg/ml)	53.3 ± 23.1
Hepcidina (pg/ml)	336.6 ± 123.7
Doza de rHuEPO (U/kgc/săptămână)	104 ± 15.2
Indicele de răspuns la rHuEPO (U/săptămână /Ht)	249 ± 15.9

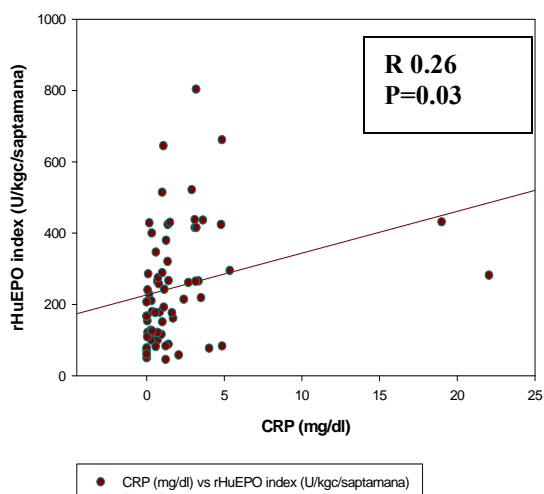


Fig. 1 : Corelația CRP cu rHuEPO index la pacienții hemodializați cronic

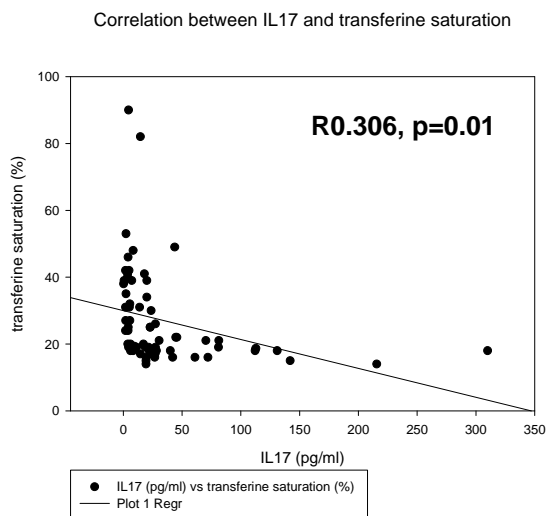


Fig. 3 : Corelația IL17 cu saturația transferinei la pacienții hemodializați cronic din lotul studiat

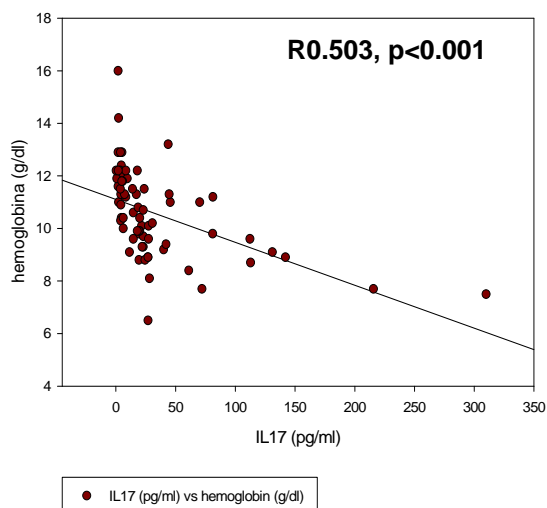


Fig. 2 : Corelația IL 17 cu hemoglobina la pacienții hemodializați cronic din lotul studiat

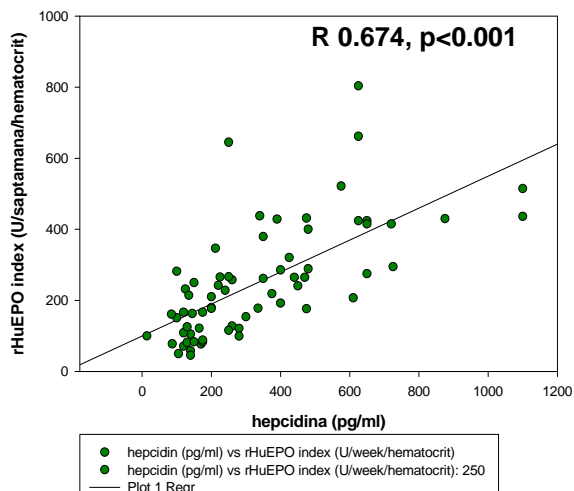


Fig. 4 : Corelația hepcidinei cu indicele de răspuns la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic din lotul de studiu

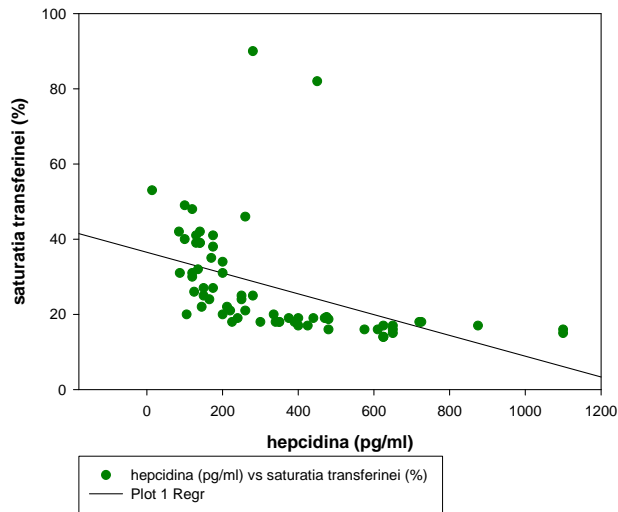


Fig. 5 : Corelația hepcidinei cu saturația transferinei la pacienții hemodializați cronic din lotul de studiu

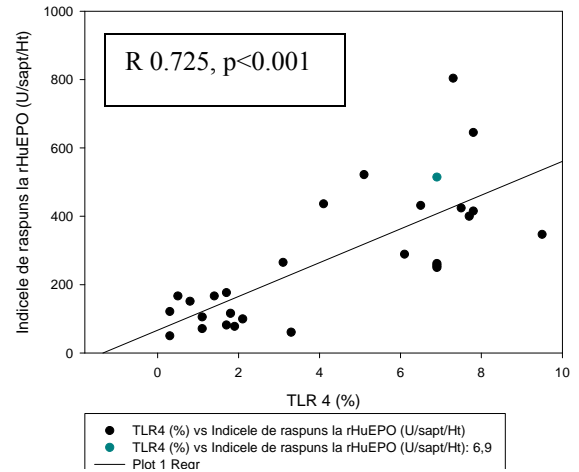


Fig. 7: Corelația expresiei TLR4 cu indicele de răspuns la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic selectați pentru determinarea TLR4

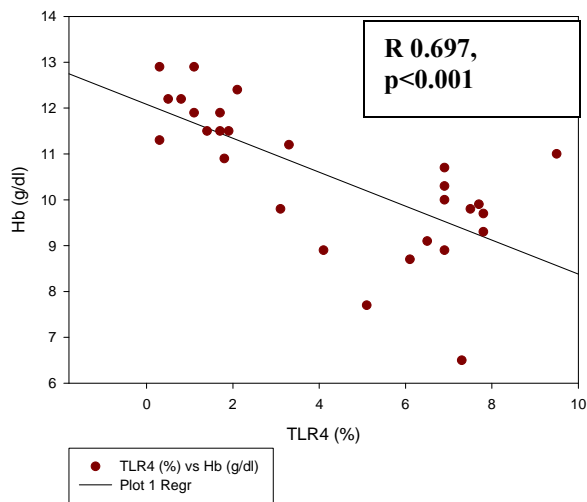


Fig. 6 : Corelația expresiei TLR4 cu hemoglobina la pacienții hemodializați cronic din lotul selectat pentru determinarea TLR4

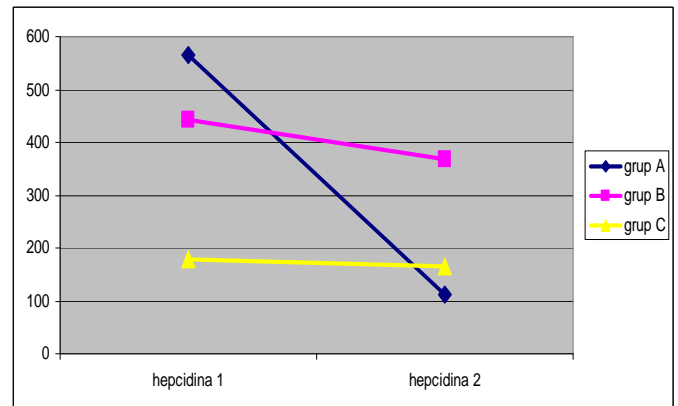


Fig. 8 : Hepcidina comparativ la cele trei grupuri, înainte și după atorvastatin

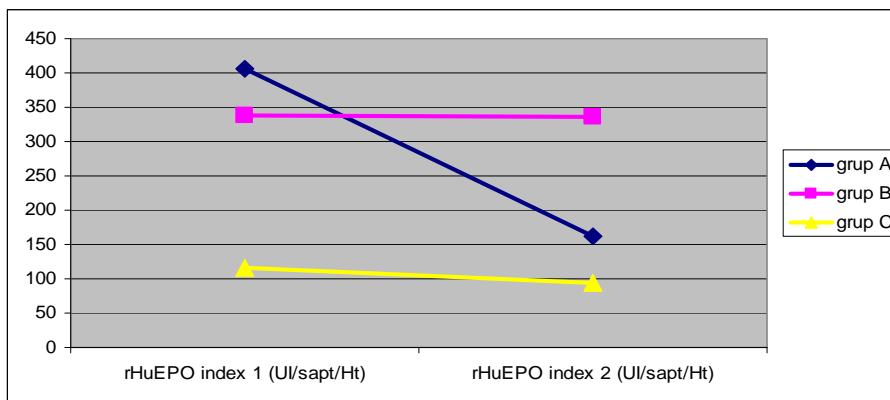


Fig. 9 : rHuEPO index (UI/săptămână/hematocrit) comparativ la cele trei grupuri, înainte și după atorvastatin

3.1.4. Discuții

În studiul de față s-a găsit o corelație inversă între valorile serice ale CRP și hemoglobină, între CRP și răspunsul la rHuEPO și o corelație pozitivă între CRP și doza administrată de rHuEPO. Aceste rezultate sunt în concordanță cu cele publicate de Kalantar Zadeh et al. (14), care au demonstrat existența unei corelații semnificative între anemia refractară și citokinele proinflamatorii pe un lot de 339 de pacienți hemodializați cronic. Deși lotul studiat în cadrul tezei de față este mai mic, corelațiile sunt statistic semnificative. Alte câteva studii precedente, efectuate pe număr mic de pacienți, au raportat rezultate similare, unii autori arătând corelația anemiei și a răspunsului la rHuEPO cu CRP, dar și cu alte citokine proinflamatorii cum ar fi IL6, IL12, TNF alpha (15,16).

IL17 a fost semnificativ crescută la pacienții hemodializați comparativ cu lotul martor și s-a corelat pozitiv semnificativ cu CRP și cu hepcidina. De asemenea s-a găsit o corelație inversă semnificativă a IL17 cu hemoglobina. Doza de rHuEPO administrată, și indicele de răspuns la rHuEPO s-au corelat pozitiv cu IL17, semnificativ statistic. Nivelul seric al IL17 a fost semnificativ mai mare la pacienții cu răspuns nesatisfăcător la rHuEPO comparativ cu cei cu răspuns bun la rHuEPO. În ceea ce privește metabolismul fierului s-a constatat în studiul de față existența unei corelații negative semnificative a IL17 cu saturația transferinei. *Aceste rezultate sugerează că IL17 influențează negativ răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic prin acțiune la nivelul metabolismului fierului și completează cunoștințele existente până în prezent referitoare la patogeniza anemiei și rezistența la tratamentul cu rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, deoarece nu a fost menționat până acum în literatura studiată, rolul IL17 în metabolismul fierului și nici în anemia renală și rezistența la rHuEPO.* Rezultatele obținute arată că *hepcidina, la pacienții hemodializați cronic, se corelează cu anemia, răspunsul nesatisfăcător la rHuEPO și deficitul funcțional de fier, rezultate importante deoarece studiile existente sunt mai ales experimentale, evaluează rolul hepcidinei în boli inflamatorii cronice, dar studiile pe pacienți hemodializați cronic sunt puține și cu rezultate contradictorii.* Unii autori au găsit valori mai mari ale hepcidinei la pacienții hemodializați cronic comparativ cu lotul martor, o corelație pozitivă a hepcidinei cu feritina, CRP și doza de rHuEPO și negativă cu hemoglobina, rezultate similare cu cele obținute în studiul nostru (140), în timp ce alții nu au găsit diferențe semnificative între valorile hepcidinei la lotul martor și la pacienții hemodializați cronic, au raportat existența unei corelații negative a hepcidinei cu hematocritul, dar nu au găsit corelații semnificative ale hepcidinei cu doza de rHuEPO sau cu feritina și saturația transferinei (17).

Expresia TLR4 la nivelul monocitelor periferice s-a corelat negativ cu hemoglobina și pozitiv cu doza administrată de rHuEPO și indicele de răspuns la rHuEPO. *Studii experimentale, de dată recentă, au identificat prezența de TLR4 la suprafața progenitorilor eritroizi medulari, activarea lor inducând secreție de citokine proinflamatorii (TNF α , IL23 și IL17) și apoptoza celulară (8, 18, 19). Nu au fost găsite însă, în literatura care ne-a fost accesibilă, studii efectuate pe pacienți hemodializați cronic care să urmărească relația TLR4 cu anemia, ceea ce face ca rezultatele acestui studiu, care arată că expresia crescută a TLR4 se corelează cu hemoglobină scăzută și răspuns nesatisfăcător la tratamentul cu rHuEPO independent de metabolismul fierului, să fie un element nou în etiopatogenia anemiei și a răspunsului nesatisfăcător la tratamentul cu rHuEPO la pacienții hemodializați cronic.*

La pacienții tratați cu atorvastatin timp de 6 săptămâni Hemoglobina a crescut semnificativ, dozele administrate de rHuEPO au scăzut și răspunsul la rHuEPO s-a îmbunătățit semnificativ față de momentul inițial, în timp ce la pacienții cu răspuns nesatisfăcător la rHuEPO care nu au fost tratați cu atorvastatin hemoglobina a rămas relativ constantă sub 10 g/dl, fără creștere sau scădere semnificativă, dozele administrate de rHuEPO nu au scăzut și răspunsul la rHuEPO nu s-a îmbunătățit comparativ cu momentul inițial. *Studii din 2006-2007 au demonstrat că tratamentul cu atorvastatin reduce nivelul CRP și sinteza unor citokine proinflamatorii (IL6, TNF α), efectul fiind dependent de doză (20-22), dar nu s-a urmărit efectul tratamentului cu atorvastatin asupra hepcidinei și nici asupra anemiei sau răspunsului la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic. Studiul de față este astfel, din cunoștințele noastre, primul studiu care arată efectul atorvastatin de reducere a hepcidinei, ameliorare a metabolismului fierului și a răspunsului la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, cu implicații posibile în îmbunătățirea tratamentului anemiei, ameliorarea calității vieții și reducerea costurilor legate de tratamentul acestor pacienți.*

3.2. Corelația unor markeri ai stresului oxidativ cu anemia și răspunsul la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic

3.2.1. Obiective

Scopul studiului de față este de a analiza relația unor markeri de stress oxidativ cu anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, precum și efectul tratamentului adjuvant cu vitamina E per os în doze mici, ca antioxidant, asupra răspunsului la rHuEPO.

3.2.2. Material și metodă

Au fost incluși în studiu 65 de pacienți cu boală cronică de rinichi tratați cu hemodializă cronică și rHuEPO de minim trei luni la Centrul de Dializă Nefromed Cluj Napoca.

Au fost excluși pacienții cu: hemoragii oculte sau clinic manifeste în ultimele trei luni, hemoliză, deficit absolut de fier (feritină <100 ng/dl + saturația transferinei <20%), deficit de vitamina B12 și/sau acid folic (anemie macrocitară), neoplazii, hiperparatiroidism secundar sever (PTH>400 pg/dl), doză insuficientă de dializă (Kt/V<1.2), ciroză cu hipersplenism, insuficiență cardiacă congestivă

22 de voluntari sănătoși au fost incluși într-un lot martor.

S-au determinat următorii markeri de stres oxidativ la pacienții hemodializați cronic și la lotul martor: malondialdehida (MDA), ca marker al peroxidării lipidelor, prin metoda precipitării cu acid tiobarbituric (TBARS) proteinele carbonilate – ca marker al peroxidării proteinelor utilizând metoda REZNICK – Laboratorul de stres oxidativ din cadrul Catedrei de Fiziologie a UMF Iuliu Hațieganu Cluj Napoca.

Ca indicatori ai capacității antioxidante s-au determinat următorii markeri la pacienții hemodializați cronic și la lotul martor:

- ceruloplasmina – metoda Ravin- Laboratorul de stres oxidativ din cadrul Catedrei de Fiziologie a UMF Iuliu Hațieganu Cluj Napoca
 - superoxid dismutaza eritocitară (SOD): utilizând kit RANSON (RANDOX Laboratories UK) – Catedra de Biochimie a UMF Iuliu Hațieganu Cluj Napoca
- Au fost comparate rezultatele markerilor determinați la hemodializații cronic cu cele ale lotului martor.

Valori ale SOD >150 U/ml au fost considerate normale, raportat la standard.

Pacienții cu SOD<150U/ml au fost împărțiți randomizat în două grupuri:

- grupul A (n=11): pacienți cu SOD<150UI/ml la care s-a administrat vitamina E (alfa tocopherol), per os, în doză de 400 mg/zi (600 UI/zi) timp de 8 săptămâni, asociat tratamentului cu rHuEPO
- grupul B (n=13): pacienți cu SOD<150 UI/ml, tratați cu rHuEPO, la care nu s-a administrat vitamina E

Grupul C (n=41) a fost constituit din pacienți cu valori normale ale SOD (SOD>150UI/ml)

S-au determinat hemoglobina, hematocritul, sideremia la începutul studiului și apoi lunar. Feritina și transferina s-au determinat la începutul și la finalul studiului.

S-au înregistrat dozele prescrise de rHuEPO (U/kgc/săptămână) la începutul și la sfârșitul studiului. S-a calculat indicele de răspuns la rHuEPO după formula:

Indice de răspuns la rHuEPO = U de rHuEPO / săptămână / hematocrit. Răspunsul nesatisfăcător la rHuEPO s-a definit ca indice de răspuns la rHuEPO>200.

S-a efectuat o analiză comparativă a datelor provenite de la cele trei grupuri sub raportul relației între markerii de stres oxidativ și hemoglobină, doza de rHuEPO administrată și răspunsul la rHuEPO înainte și după administrarea vitaminei E.

Pentru prelucrarea statistică a datelor s-a folosit programul Sigma Stat utilizându-se testul t, regresia liniară, testul ANOVA, testul Kruskal Wallis. Valori ale p<0.05 au fost considerate statistic semnificative.

Rezultatele sunt prezentate ca media± SD

3.2.3. Rezultate

Tabel 3. Parametrii biologici, doza de rHuEPO și indicele de răspuns la rHuEPO comparativ la cele trei grupuri de pacienți hemodializați cronic

Caracteristici	Grup A	Grup B	Grup C
Hb (g/dl)	8.6 ± 0.6	9.4 ± 0.3	11.4 ± 0.4
Hematocrit (%)	26.1 ± 5.4	28.6 ± 7.3	33.8 ± 6.2
Sideremie (μg/dl)	102.3 ± 11.5	99.8 ± 10.4	112.7 ± 12.5
Feritină (ng/ml)	327.6 ± 23.8	385.6 ± 45.5	311.7 ± 36.7
rHuEPO U/kg/săptămână	102.5 ± 14.9	95.2 ± 13.8	50.6 ± 11.8
Indicele de răspuns la rHuEPO (UIrHuEPO/săptămână/hematocrit)	271.7 ± 17.3	225.3 ± 19.4	147.6 ± 12.6
Parathormon (pg/ml)	299.4 ± 22.8	255.7 ± 31.6	274.8 ± 26.2
Calciu seric (mEq/l)	4.8 ± 0.4	4.5 ± 0.2	4.6 ± 0.3
Fosfați (mg/dl)	5.9 ± 0.9	6.1 ± 0.5	5.8 ± 0.7

Tabel 4. Markeri de stres oxidativ la pacienții hemodializați cronic cu Hb<10 g/dl vs Hb>10 g/dl

Markeri de stress oxidativ	Hb<10 g/dl	Hb>10 g/dl	p
MDA (nmol/ml)	2.1±0.2	1.9±0.1	0.45, NS
Proteine carbonilate (mg/g de proteine)	1.01±0.8	1.00±0.8	0.94, NS
SOD eritrocitară (U/ml)	135.1±5.7	168.1±6.3	<0.001
Ceruloplasmina ((mg/dl)	25.3±2.1	23.7±1.5	0.6, NS

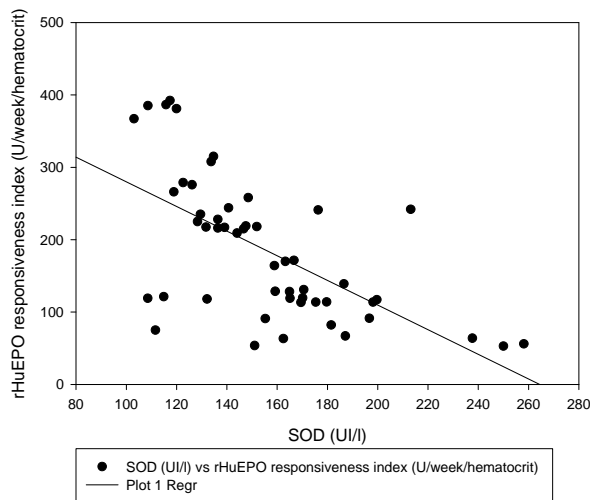


Fig 10: Corelația SOD cu indicele de răspuns la rHuEPO (p=0.0122, R=0.319) la pacienții hemodializați cronic

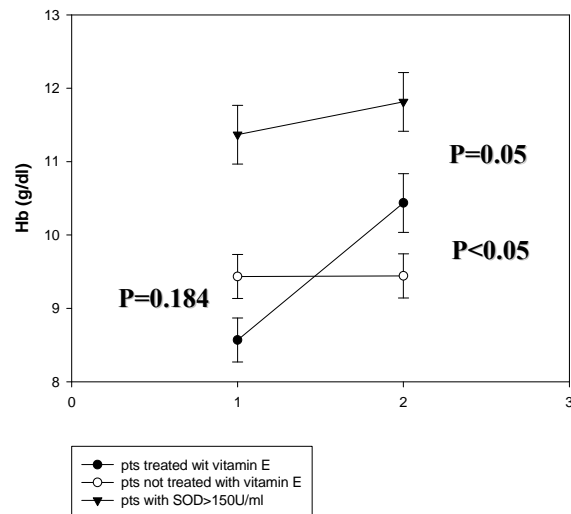


Fig. 11: Hemoglobina la pacienții din grupul A comparativ cu grupul B și C înainte și după suplimentare cu vitamina E

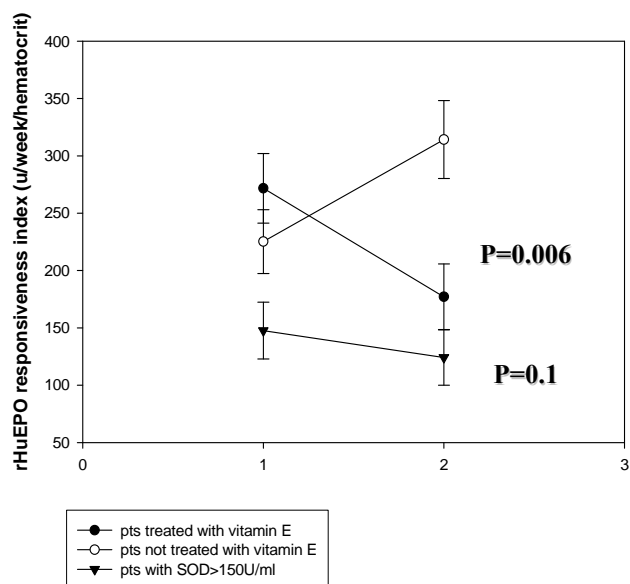


Fig. 12 : Indicele de răspuns la rHuEPO la pacienții din grupul A comparativ cu grupul B și C înainte și după suplimentare cu vitamina E

3.2.4. Discuții

În acest studiu s-a găsit o *corelație semnificativă a SOD eritrocitare cu hemoglobina*. S-a constatat de asemenea o *corelație inversă între SOD și indicele de răspuns la eritropoetină*. Unele studii anterioare au găsit o corelație între SOD și nivelul hemoglobinei, în timp ce altele nu au raportat existența unei corelații între anemie și valorile SOD eritrocitare (23-25). De asemenea, studii precedente experimentale și clinice au arătat existența unor corelații între MDA (ca marker al peroxidării lipidelor) și anemie, precum și între proteinele carbonilate (ca marker al atacului oxidativ asupra proteinelor) și anemie, demonstrând totodată că peroxidarea lipidelor și carbonilarea proteinelor din membrana eritrocitară sunt responsabile de hemoliză și agravarea anemiei în condiții de stres oxidativ crescut (26-29). În studiul de față *nu s-au găsit corelații ale MDA și proteinelor carbonilate nici cu hemoglobina, nici cu doza de eritropoetină administrată sau indicele de răspuns la eritropoetină*. Au fost excluși însă pacienții cu hemoliză, ceea ce face ca rezultatele obținute să fie cu atât mai importante, majoritatea studiilor precedente axându-se tocmai pe demonstrarea rolului hemolizei datorate oxidării structurilor membranei eritrocitare. Rezultatele studiului de față arată că în prezența producerii crescute de radicali liberi, *capacitatea antioxidantă scăzută se corelează cu severitatea anemiei și cu răspunsul nesatisfăcător la tratamentul cu eritropoetină la pacienții hemodializați cronic, implicate fiind alte mecanisme decât hemoliza*.

La pacienții tratați cu vitamina E (grupul A) hemoglobina a crescut semnificativ după 8 săptămâni de tratament. Mai mult decât atât, la sfârșitul tratamentului cu vitamina E hemoglobina pacienților din grupul A a fost semnificativ mai mare decât cea a pacienților cu valori scăzute ale SOD care nu au primit vitamina E (grupul B), cu toate că a rămas mai mică decât a pacienților din grupul C cu valori normale ale SOD. La pacienții tratați cu vitamina E răspunsul la eritropoetină s-a îmbunătățit semnificativ după 8 săptămâni comparativ cu momentul de start. Doza prescrisă de eritropoetină la acești pacienți după 8 săptămâni de co-administrare de vitamina E a fost semnificativ mai mică

decât cea necesară la pacienții cu SOD scăzută care nu au primit vitamina E și care au necesitat doze chiar mai mari de rHuEPO comparativ cu momentul de start reflectând eforturile de a atinge hemoglobina țintă. *Studii experimentale anterioare au demonstrat că vitamina E este epurator al radicalului superoxid completând astfel activitatea SOD și reduce sinteza xantinoxidazei, enzimă generatoare de radicali superoxid (30-33). Rezultatele acestui studiu sunt considerate ca fiind de mare importanță deoarece demonstrează in vivo efectul suplimentării per os cu vitamina E la pacienții cu valori scăzute ale SOD.*

3.3. Rolul anemiei în progresia bolii cronice de rinichi

3.3.1. Obiective

Obiectiv principal: Evaluarea relației dintre anemie și progresia BCR la pacienți cu nefropatie cronică diabetică și nediabetică

Obiectiv secundar : Stabilirea valorii optime a hemoglobinei care trebuie menținută pentru a încetini progresia BCR

3.3.2 Material și metodă

Studiul de față este un studiu retrospectiv. Au fost luați în studiu 87 de pacienți cu insuficiență renală cronică în predializă (nefropatie cronică stadiile 2-5 K/DOQI în predializă), internați în Clinica Nefrologie Cluj Napoca în perioada 2000-2006.

Criterii de excludere : glomerulopatii în tratament cu corticoizi, imunosupresoare, lupus eritematos systemic, factori de acutizare: deshidratare, infecții, medicație nefrotică, valori TA insuficient controlate medicamentos, diabet zaharat dezechilibrat, neoplazii, hemoragii

S-a calculat Cl creatininic după formula Cockcroft Gault la începutul și la sfârșitul perioadei de urmărire.

S-a calculat rata de progresie a BCR (declinul lunar al Cl creatininic) după formula: $(Cl\ creatininic\ 2 - Cl\ creatininic\ 1) / \text{număr luni de urmărire}$.

S-au notat din foile de observație ale pacienților valoarea hemoglobinei la momentul inițial, valoarea proteinuriei, valorile serice ale albuminei acidului uric și colesterolului total, indicele de masă corporală, TA, tratamentul (inclusiv IECA).

Pacienții au fost stratificați în funcție de

- proteinurie : < 1g/24h, 1-3 g/24h, > 3 g/24h
- stadiul nefropatiei cronice : stadiul 2 K/DOQI : Cl creatininic 90-60 ml/min, stadiul 3 K/DOQI : Cl creatininic 60-30 ml/min, stadiul 4 K/DOQI : Cl creatininic 30-15 ml/min, stadiul 5 K/DOQI în predializă : Cl creatininic <15 ml/min
- valoarea hemoglobinei: Hb <10 g/dl, Hb 10-11 g/dl, Hb 11-12 g/dl, Hb > 12 g/dl

Datele au fost prelucrate statistic cu programul SIGMA STAT utilizând testul t și regresia liniară. Rezultatele sunt redată ca media±SD

3.3.3. Rezultate

	Media ± SD
Proteinurie (g/24h)	3.1 ± 0.5
Hemoglobina	11.3 ± 1.9
Albumina serica (g/dl)	3.17 ± 0.4
Colesterol total (mg/dl)	225.4 ± 2.8
Acid uric (mg/dl)	5.7 ± 1.6
Creatinina serica 1 (mg/dl)	2.6 ± 2.3
Creatinina serica 2 (mg/dl)	3.4 ± 2.8
Cl creatininic 1 (ml/min)	44.9 ± 25.8
Cl creatininic 2 (ml/min)	30.4 ± 22.5
Rata de progresie (DCI/luna)	- 0.9 ± 0.3

Tabel 5 : Parametrii biologici ai pacienților incluși în studiu

Corelatarea hemoglobinei cu rata de progresie

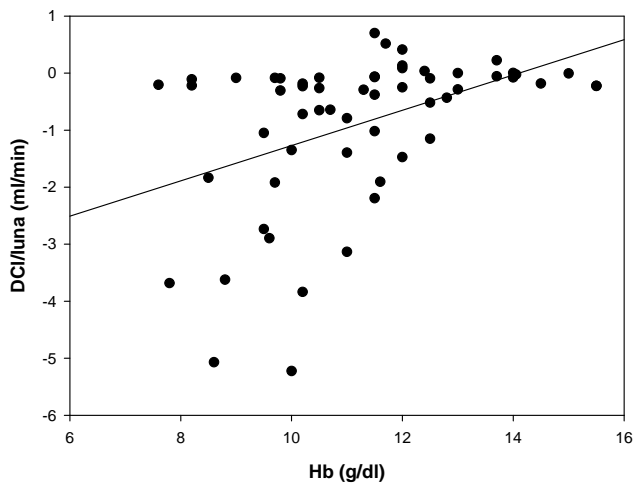


Figura 13: Corelația hemoglobinei cu rata de progresie a BCR (R0.430, p<0.001)

Rata de progresie la grupul cu Hb <10 g/dl vs Hb 10-11 g/dl a fost de -1.15 ml/min/luna vs -0.8 ml/min/luna (p 0.8, NS), la grupul cu Hb <10 g/dl vs. Hb 11-12 g/dl a fost de -1.15 ml/min/luna vs 0.58 ml/min/luna (p 0.6, NS), iar la grupul cu Hb <10 vs Hb >12 g/dl a fost de -1.15 vs -0.4 ml/min/luna (p<0.001, SS).

3.3.4. Discuții

Rezultatele studiului de față arată existența unei corelații statistice semnificative între hemoglobina inițială și rata de progresie a bolii cronice de rinichi la pacienții cu diferite cauze de nefropatie cronică în diferite stadii K/DOQI. Studii preliminare au arătat că anemia este un factor independent de progresie a insuficienței renale cronice, luând însă în studiu doar pacienți cu nefropatie dibetică (34-36).

Studiul de față arată că o scădere mică a hemoglobinei determină creșterea ratei de progresie a bolii cronice de rinichi. Rata de progresie a fost semnificativ mai mică la grupul cu hemoglobină >12 g/dl comparativ cu loturile cu hemoglobină 11-12g/dl, 10-11 g/dl și <10 g/dl. De asemenea s-a constatat că progresia nu a fost diferită semnificativ la pacienții cu hemoglobină <10 g/dl față de cei cu hemoglobină 10-11 g/dl sau 11-12 g/dl, rezultând astfel că este importantă o menținere a hemoglobinei la cca 12 g/dl. Studii precedente au arătat că rata progresiei crește chiar de la o hemoglobină mai mică de 13,8 g/dl și riscul de progresie se dublează dacă hemoglobina scade sub 11,8 g/dl (34). În concluzie se confirmă faptul că hemoglobina este un factor de progresie independent al bolii cronice de rinichi și o scădere a hemoglobinei sub 12 g/dl se asociază cu creșterea ratei de progresie încă din stadiile precoce ale insuficienței renale.

3.4. Concluzii generale

1. Valori crescute ale CRP se corelează cu severitatea anemiei, răspuns nesatisfăcător la rHuEPO, doze mari de rHuEPO și *CRPar putea fi considerat factor predictiv pentru răspunsul la rHuEPO.*

2. IL17 și hepcidina se corelează cu anemia, deficitul functional de fier, răspunsul nesatisfăcător la rHuEPO și doze crescute de rHuEPO, *ceea ce aduce elemente noi în patogeneza anemiei și a răspunsului nesatisfăcător la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, rolul IL17 în anemia renală și în metabolismul fierului nefiind publicat până în prezent în literatura care ne-a fost accesibilă.*

3. Tratamentul adjuvant cu atorvastatin în doze de 10 mg/zi reduce nivelul hepcidinei, ameliorează metabolismul fierului, îmbunătățește răspunsul la rHuEPO, ameliorează anemia și reduce necesarul de rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, *element de noutate în tratamentul anemiei la pacienții hemodializați cronic, din cunoștințele noastre efectele atorvastatin nefiind studiate până în prezent în raport cu anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic.*

4. Expresia TLR4>5% se corelează cu anemia, răspunsul nesatisfăcător la rHuEPO și doze crescute de rHuEPO prin mecanisme probabil independente de metabolismul fierului, *rezultate care contribuie la originalitatea studiului deoarece rolul activării TLR4 în anemia și răspunsul la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic nu a fost descris în literatura care ne-a fost disponibilă.*

5. Anemia și răspunsul la rHuEPO se corelează cu markerii de malnutriție proteică și cu acidoza metabolică severă, *elemente noi în patogeneza anemiei și a răspunsului la rHuEPO la pacienții hemodializați cronic, nefiind urmărită până în prezent, din cunoștințele noastre, relația anemiei cu acidoza metabolică.*

6. Pacienții cu valori scăzute ale SOD eritrocitare sunt mai anemici, necesită doze mai mari de rHuEPO și răspund nesatisfăcător la rHuEPO comparativ cu cei cu valori

normale ale SOD, *prin mecanisme independente de hemoliză, rezultat important având în vedere faptul că în literatură s-a publicat în principal relația dintre radicalii liberi de oxigen și hemoliză.*

7. Tratamentul adjuvant cu vitamina E per os în doze mici îmbunătățește răspunsul la rHuEPO, ameliorează anemia și reduce necesarul de rHuEPO la pacienții hemodializați cronic cu valori scăzute ale SOD eritrocitare; din cunoștințele noastre este *primul studiu in vivo care arată faptul că vitamina E suplinește efectele valorilor scăzute ale SOD eritrocitare la pacienții hemodializați cronic (efect demonstrat doar experimental până în prezent).*

8 . Anemia se confirmă a fi factor independent de progresie a bolii cronice de rinichi încă din stadiul 2 K/DOQI.

9. Scăderea hemoglobinei sub 12 g/dl crește riscul de progresie a bolii renale cronice în toate stadiile K/DOQI și indiferent de valoarea proteinuriei.

Referințe

1. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (suppl 11): 39-43
2. Deicher R, Horl WH. Heparin: a molecular link between inflammation and anemia. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 521-524
3. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S et al. The iron regulatory peptide hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J endocrinol* 2005; 184: 361-370
4. Malyszko J, Malyszko JS, Hryszko T et al. Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *American journal of nephrology* 2005, 6: pp. 586-590
5. Jovicic G, Bugarski D, Krstic A, Vlaski M. The effect of interleukin-17 on hematopoietic cells and cytokine release in mouse spleen. *Physiol Res* 2006
6. Bugarski D, Krstic A, Hojsilovics S. Signaling pathways implicated in hematopoietic progenitor cell proliferation and differentiation. *Exp Biol Med* 2007; 232: 156-163
7. Jovicic G, Bugarski D, Petakov M et al. In vivo effects of interleukin-17 on haematopoietic cells and cytokine release in normal mice. *Cell prolif* 2004; 3: 401-412
8. Maratheftis CI, Andreakos E, Montgopoulus HM et al. Toll-like receptor 4 is up-regulated in hematopoietic progenitor cells and contributes to increased apoptosis in myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(4): 1154-1160
9. Danielski M, Ikizler TA, McMonagle E, Kane JC, PupimL, Morrow J, Himmelfarb J: Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Kidney Int* 2003; 42: 286 –294
10. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad- Boudia M et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radical Biol Med* 1996; 21:845-853
11. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH et al. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1995; 41: 1135-1138
12. Cavdar C, Camsari T, Semin I et al. Lipid peroxidation and antioxidant activity in chronic hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Scand J Urol Nephrol* 1997; 31: 371-375

13. Cruz DN, de Cal M, Ronco C. Oxidative stress and anemia in chronic hemodialysis: the promise of bioreactive membranes. *Contrib Nephrol.* 2008; 161: 89-98.
14. Kalantar-Zadeh K, McAllister C.J., Lehn R.S. et al. Effect of malnutrition-inflammation complex syndrome on EPO hyporesponsiveness in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:761-773
15. Barany P. Inflammation, serum C-reactive protein and erythropoietin resistance. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 224-227
16. Sitter T, Bergner A, Schiffel H. Dialysate related cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1207-1211
17. Eleftheriadis T, Kartsios C, Liakopoulos V et al. Does Heparin Affect Erythropoiesis in Hemodialysis Patients? *Acta Haematol* 2006;116:238-244
18. Baner S, Hangel D, Yu P. Immunobiology of toll-like receptors in allergic disease. *Immunobiology* 2007; 212 (6): 521-533
19. Waibler Z, Kalinke U, Will J et al. TLR-ligand stimulated IL-23 subunit expression and assembly is regulated differentially in murine plasmacytoid dendritic cells. *Mol Immunol* 2007; 44: 1483-1489
20. Kanadasi H, Caylin M, Demirtas M et al. The effect of early statins in treatment of inflammation and cardiac event in acute coronary syndrome. *Heart Vessels* 2006; 21 (5): 291-297
21. Prasad K. C-reactive protein (CRP) lowering agents. *Cardiovasc Drug Rev* 2006; 24 (1): 33-50
22. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Lahera V et al. Effects of atorvastatin on inflammatory and fibrinolytic parameters in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (suppl 3)
23. Takahashi K, Cohen HG. Glutathione peroxidase protein, selenium deficiency and correlation with enzymatic activity *J Clin Invest* 1986; 77(4):1402-4.
24. Descamps-Latscha B, Goldfarb B, Nguyen AT et al. Establishing the relationship between complement activation and stimulation of phagocyte oxidative metabolism in hemodialysis patients. *Nephron* 1991; 59: 279-285
25. Tepel M, Echelmeyer M, Orle NN et al. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure; effect of hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58: 867-872
26. Hasselwander O, Young IS. Oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Res* 1998; 29: 1-11
27. Tetta C, Biasioli S, Schiavon R et al. An overview of hemodialysis and oxidative stress. *Blood Purif* 1999; 17: 118-126
28. Canestrari F, Galli F, Giorgini A et al. Erythrocyte redox state in uremic anemia: Effects of hemodialysis and relevance of glutathione metabolism. *Acta Haematol* 1994; 91: 187-193
29. Westhuyzen J, Saltisi D, Stanbury V. Oxidative stress and erythrocyte integrity in end-stage renal failure patients hemodialysed using vitamin E-modified membrane. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 2003; 33: 3-10
30. Muresan A., Tache S, Orasan R. Oxidanti si antioxidanti. In: *Stresul oxidativ in procese fiziologice si patologice*. Ed Todesco, Cluj Napoca 2006, cap1: 1-27

31. Block G, Dietridh M, Norkus E et al. Factors associated with oxidative stress in human population. *Am J Epidemiol* 2002; 156:274-285
32. Tache S. Capacitatea antioxidanta a organismului. In: D.Dejica, *Antioxidantii si terapia antioxidanta*. Casa Cartii de Stiinta, Cluj Napoca, 2001, cap. 2: 71-101
33. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experim Physiol* 1997; 12:291-295
34. Mohanram A, Zhang Z, ShahinfarS et al. Anemia and end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Kidney Int* 2004 ; 66 :1131-1142
35. Keane WF, Brenner BM, De Zeeuw D et al. The risk of developing end stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Kidney Int* 2003 ; 63(4) : 1499-1507
36. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes : The United Kingdom prospective diabetes study. *Kidney Int* 2003 ; 63(1) : 225-232

Curriculum Vitae

Nume, prenume: RUSU ANCA ELENA

Data si locul nasterii: 13.11.1975, Medias, jud Sibiu

Domiciliul actual: Cluj Napoca, str. Eugen Ionesco nr 36/3

e-mail: flaviarusu@yahoo.com

telefon: 0745359321

Locul actual de munca si functia: Centrul de Dializă S.C. Rena Clinic SRL Cluj
Napoca, medic specialist nefrologie

Studii:

- Doctorand cu frecvență 2004-2008, titlul tezei de doctorat: Anemia in insuficienta renala cronica: relatia cu inflamatia si stresul oxidativ
- Cursuri postuniversitare:
 - Cluj Napoca – noiembrie 2006, noiembrie 2005, aprilie 2005, februarie 2005
 - Praga, ianuarie 2004; Iasi, iunie 2003; Budapesta, august 2003
- Facultatea de medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca, Diploma Medic 2000 (examen cu licenta)

Experiența profesională:

- medic stagiar, Clinica Medicala IV Cluj Napoca (ianuarie 2001-ianuarie 2002),
- medic rezident nefrologie, Spitalul Clinic Judetean Cluj, Clinica Nefrologie (Ianuarie 2002-decembrie 2006),
- medic specialist nefrologie- din octombrie 2006 (examen de specialitate)
- doctorand cu frecventa, Universitatea de Medicina si Farmacie Iuliu Hatieganu, Catedra de Nefrologie, Cluj Napoca noiembrie 2004 – noiembrie 2008
- În prezent membru al colectivului Centrului de Dializă SC Rena Clinic SRL Cluj Napoca

Membru al asociațiilor profesionale: membru Societatea Română de Nefrologie ;
membru European Renal Association (ERA-EDTA)

Activitatea științifică :

- **Lucrări științifice publicate in extenso**
 - În țară

1. **Anca Rusu**, Delia Zalutchi, Simona Racasan, Doina Daicoviciu, Elena Craciun, Adriana Muresan, IMPatiu, Mirela Gherman Caprioara. Erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients with low levels of erythrocyte superoxid dismutase. *Fiziologia* 2008; 18 (57): 252-254.
2. **Anca Rusu**, Simona Racasan, IMPatiu, Anca Cristea, Mirela Gherman. Erythropoietin responsiveness in anemic chronic hemodialysis patients: links with inflammation and malnutrition. *Fiziologia* 2005, 3(47): 21-24
3. Ina Kacso, **Anca Rusu**, Simona Racasan, IM Patiu, R. Orasan, Amalia Rogojan, Carmen Georgescu, Melania Airizer, Diana Moldovan, Mirela Gherman Caprioara. Calcific uremic arteriopathz related to chronic renal failure. A case-control study. *Acta Endocrinologica* 2008; 4: 391-400
4. Vladutiu Dan, Rusu Anca, Spanu Costel, Gherman Mirela, Sfrngeu Silviu, Dudea Sorin. Stenoza de artera renala. Aspecte diagnostice si terapeutice. *Nefrologia* 2004; 9: 103-110

➤ **În străinătate**

1. **Anca Rusu**, Simona Racasan ,IMPatiu, Anca Cristea, Mirela Gherman. The influence of inflammation markers on anemia and erythropoietin responsiveness in hemodialysis patients in a dialysis unit from Romania. *BANTAO Journal* 2005; 3(2): 67-69
2. Cucuianu A, Patiu M, **Rusu A**. Hcpidin and multiple myeloma related anemia. *Med Hypotheses*. 2006;66(2):352-354.(ISI)PMID: 16226391 [PubMed - indexed for MEDLINE]

• **Lucrări științifice publicate în volum de rezumate**

➤ **În țară**

1. **A. Rusu**, D. Zaluțchi, E. Crăciun, A. Cristea, R. Răhăian, IMPațiu, M. Gherman-Căprioară. Erythrocyte superoxid dismutase and interleukin 17 in anemia and erythropoietin responsiveness of hemodialysis patients. *Fiziologia* 2008; 2(58) volum de rezumate al 10-lea Congres al Societății Române de Științe Fiziologice, Cluj Napoca: p. 64
2. **A. Rusu**, D. Zaluțchi, S.Răcășan, E Crăciun, IMPațiu, M. Gherman Căprioară. Vitamin E therapy and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis

3. **Anca Rusu**, Simona Răcășan, IMPațiu, Anca Cristea, Mirela Gherman Căprioară. Influența markerilor inflamației asupra anemiei și răspunsului la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic în Clinica de Nefrologie Cluj Napoca. Nefrologia 2005; 27-28. Volum de rezumate, al IV-lea Congres Național de Nefrologie, Craiova 2005: p. 64
4. **Anca Rusu**, Simona Racasan, Delia Zaluțchi, IMPațiu, Adriana Mureșan, Mirela Gherman Căprioară. Influența markerilor de stress oxidativ și a tratamentului cu vitamina E asupra anemiei și răspunsului la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic. Zilele Universității de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu, Cluj Napoca, decembrie 2006.
5. **Anca Rusu**, Dan Vladutiu, Costel Spanu, Laura Motocu, Alexandru Hagau, Margarit Stanescu, Sorin Ducea, Gabriel Andries, Silviu Sfrangeu, Mirela Gherman Caprioara. Diagnosticul si tratamentul hipertensiunii arteriale renovasculare in Cluj Napoca. Nefrologia 2004; 8(22): 355

➤ **În străinătate**

1. **Anca Rusu**, Ina Kacso, Anca Cristea, Rodica Rahaian, Ioan Mihai Pațiu, Mirela Gherman Căprioară. Interleukin 17 and hepcidin in anemia and erythropoietin responsiveness in chronic kidney disease patients treated with hemodialysis. Scandinavian Journal of Immunology 2008; 68 (2). 38th Congress of Scandinavian Society for Immunology, Stockholm 2008: p.204
2. **Anca Rusu**, Simona Răcășan, Delia Zaluțchi, IMPațiu, Adriana Mureșan, Mirela Gherman Căprioară. The influence of oxidative stress and vitamin E therapy on erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 2006; 21 (suppl 4), XLIII Congress of the European Renal Association-European Dialysis and Transplant Asociation, Glasgow 2006: p. iv 151. ISSN 0931-0509
3. **Anca Rusu**, Simona Racasan ,IMPatiu, Anca Cristea, Mirela Gherman. The influence of inflammation markers on anemia and erythropoietin responsiveness

4. Simona Racasan, **Anca Rusu**, Anca Cristea, IMPatiu, Mirela Gherman Caprioara. Correlation between interleukin 18, C-reactive protein and serum albumin in chronic hemodialysis patients in a dialysis unit from Transylvania. XLI ERA-EDTA Congress, Lisbon, Portugal, 2004

- **Participant ca autor principal cu comunicari orale si postere la congrese nationale si internationale** (Congresul European de Imunologie, Stockholm 2008, Congresul National de Fiziologie cu participare internationala, Cluj Napoca 2008, Congresul National de Nefrologie cu participare internationala Poiana Brasov 2007, Congresul European de Nefrologie ERA-EDTA Glasgow 2006, Congresul National de Nefrologie cu participare internationala Craiova 2005, Congresul National de Nefrologie Cluj Napoca 2004, Zilele UMF Iuliu Hatieganu Cluj Napoca 2005 si 2006)
- **director de grant CNCSIS tip TD, nr 584/2007-2008, titlul proiectului: Anemia in insuficienta renala cronica: relatia cu inflamatia si stresul oxidativ**

Limbi straine cunoscute: engleza, franceza

**UNIVERSITY OF MEDICIN AND PHARMACY
IULIU HATIEGANU
CLUJ NAPOCA**

**ANEMIA OF CHRONIC RENAL FAILURE: LINKS WITH
INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS AND THE
ROLE IN PROGRESSION OF CHRONIC KIDNEY
DISEASE**

Abstract

ANCA RUSU

Scientific coordinator

**Prof. Dr. MIRELA
GHERMAN – CĂPRIOARĂ**

2009

Summery

5. Introduction.....	p. 3
6. Key words.....	p.3
7. Personal assesments.....	p. 4
3.1 Correlation of inflammation markers with anemia and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients.....	p. 4
3.1.1 Aims.....	p. 4
3.1.2. Material and method.....	p. 4
3.1.3 Results and discussion.....	p. 4
3.2 Correlation of oxidative stress markers with anemia and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients.....	p.5
3.2.1 Aims.....	p.5
3.2.2 Material and method.....	p.5
3.2.3 Results and discussions.....	p.5
3.3 The role of anemia in progression of chronic kidney disease.....	p.7
3.3.1 Aims.....	p.7
3.3.2 Material and method.....	p. 7
3.3.3 Results and discussions.....	p.8
3.4 Conclusions.....	p.9
8. References.....	p.9

1. Introduction

Anemia is an important cause of morbidity and mortality in patients with chronic renal failure and particularly in chronic hemodialysis patients.

Treatment with erythropoiesis stimulatory agents significantly improved anemia and quality of life in chronic renal failure patients. However, up to 12% of hemodialysis patients have a poor response to erythropoietin (rHuEPO) requiring high doses of rHuEPO and leading to increased costs of treatment which is already high in these patients (1); the role of inflammation and oxidative stress in anemia of chronic hemodialysis patients has been studied during the last years and that reflects the continuously efforts made in order to improve the treatment and life quality of chronic hemodialysis patients. The role of some proinflammatory cytokine and acute phase proteins has been demonstrated(1). Only few studies were found in the literature regarding the role of hepcidin in anemia of chronic hemodialysis patients (2-4), and there is no data about the existence of any therapeutic agents which may reduce liver synthesis of hepcidin. Some recent experimental studies (2006-2007) have shown the role of Interleukin 17 (IL17) in inhibition of medullary erythropoiesis (5-7), as well as the role of increased expression of TLR4 in apoptosis of medullary erythroid progenitors in rats with Fanconi anemia (8), but no studies about their role either in renal anemia or in erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients were found. The results published in the literature about oxidative stress and renal anemia are controversial and there are more studies referring to free radicals induced hemolysis than to other mechanisms.(9-12). The effect of co-treatment with vitamin E-coated hemodialysis membranes on oxidative stress was studied, but less attention has been accorded to oral vitamin E co-administration for improving rHuEPO responsiveness in chronic hemodialysis patients with low antioxidant capacity (13). This paper aims to bring a better understanding in anemia etyopathogenesis and erythropoietin hyporesponsiveness as well as an improvement in rHuEPO responsiveness.

Aims of the study:

a) to evaluate the relationship of IL17, hepcidin, TLR4 with anemia and rHuEPO responsiveness in chronic hemodialysis patients

b) to evaluate the relationship of increased oxidative stress and decreased antioxidant capacity with anemia and rHuEPO responsiveness in chronic hemodialysis patients without hemolysis

c) to evaluate the effect of atorvastatin co-administration on hepcidin levels and rHuEPO responsiveness;

d) to study the effect of co-treatment with oral low doses of vitamin E on rHuEPO responsiveness in chronic hemodialysis patients with low levels of erythrocyte superoxide dismutase and no hemolysis.

2.Key words: anemia, hemodialysis, rHuEPO hyporesponsiveness, interleukin 17, hepcidin, TLR4, erythrocyte superoxide dismutase, atorvastatin, vitamin E

3. Personal assesments

3.1 Correlations of inflammation markers with anemia and rHuEPO responsiveness in chronic hemodialysis patients

3.1.1. Aims

- To evaluate the correlation of C-Reactive Protein (CRP), IL17, hepcidin, TLR4 with anemia and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients
- To evaluate the effect of co-treatment with atorvastatin on anemia and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients.

3.1.2. Material and methods

69 hemodialysis patients from Nefromed Dialysis Center Cluj Napoca were included. Patients with bleedings, hemolysis, absolute iron deficiency, neoplasia, folic acid and/or vitamin B12 deficiency, severe hyperparathyroidism (PTH>400 pg/dl), Kt/V<1.2, cirrhosis, congestive heart failure, treatment with statins during the last three months were excluded. 14 healthy volunteers were recruited.

Hemoglobin, hematocrit, serum iron, serum ferritin and transferrin were measured. Transferrin saturation was calculated. Functional iron deficiency was defined as serum ferritin >100 ng/dl with transferrin saturation <20%. Administered rHuEPO doses were noted and rHuEPO responsiveness index was calculated (UI rHuEPO/week/hematocrit). rHuEPO index >200 was considered as hyporesponsiveness. CRP, IL17, hepcidin were measured using ELISA kits and TLR4 expression in peripheral monocytes was determined using flowcytometry. Correlations between CRP, IL17, TLR4, hepcidin and hemoglobin, serum ferritin, transferrin saturation, rHuEPO dose and rHuEPO responsiveness index were evaluated. Patients were divided in three groups regarding to their hemoglobin, rHuEPO index and hepcidin levels: group A- rHuEPO index <200; group B – rHuEPO index >200, hepcidin >200 pg/dl, treated with atorvastatin 10 mg/day for 6 weeks+ beta rHuEPO s.c.; group C- rHuEPO index >200, hepcidin >200 pg/dl, treated with beta rHuEPO only.

Statistical analysis was performed with Sigma Stat program, using t-test, linear regression, ANOVA and Kruskal Wallis tests. Data is presented as mean±SD

3.1.3. Results and discussions

Mean age was 59 ± 11 years, mean time on dialysis was 4.8 ± 1.1 years, KT/V was 1.35 ± 0.1 . Hemoglobin was 10.6 ± 1.7 g/dl and transferrin saturation was $27.1 \pm 9.4\%$. Immunological markers are listed in table 1.

	Media ± SD
CRP (mg/l)	7.2 ± 3.4
IL 17 (pg/ml)	53.3 ± 23.1
Hepcidina (pg/ml)	336.6 ± 123.7
Doza de rHuEPO (U/kgc/săptămână)	104 ± 15.2
Indicele de răspuns la rHuEPO (U/săptămână /Ht)	249 ± 15.9

Table 1: Immunological markers, administered rHuEPO dose and rHuEPO responsiveness index in chronic hemodialysis patients

CRP inversely correlated with hemoglobin (R0.26, p=0.03) and positively with rHuEPO index (R0.303, p<0.001) and our results are correlated with those of Kalantar Zadeh et al.(14). Some authors related the role of other proinflammatory cytokines such as IL6, IL12 and TNF alpha in anemia of chronic kidney disease (15,16).

We also found a negative correlation of IL17 with hemoglobin (R 0.503, p<0.001) and with transferin saturation (R0.306, p=0.01)and our results are more important as there are no studies in the literature about the implications of IL17 either in iron metabolism nor in rHuEPO responsiveness of chronic hemodialysis patients. Hepcidin was also significantly correlated with transferin saturation (R 0.455, p=0.002) and with rHuEPO responsiveness index (R 0.674, p<0.001) and our results are similiary with those of some studies (14) while in contrast with the others (17). Moreover, after co-treatment with atorvastatin patients significantly improved their rHuEPO responsiveness (fig.1) while hepcidin levels decreased.

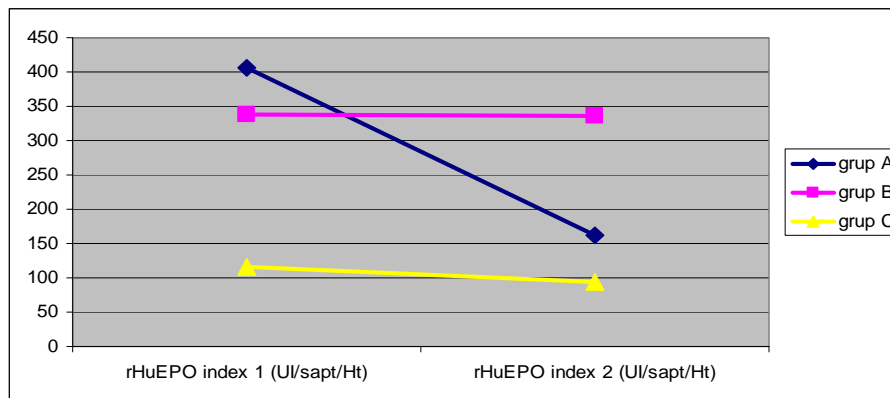


Fig.1. rHuEPO responsiveness index (UI/week/hematocrit) before and after co-treatment with atorvastatin

Patients with higher expression of TLR4 in periferical monocytes had lower hemoglobin (p<0.001)and pooerer response to rHuEPO (p<0.001) as compared with those with low expression of TLR4. Some recent experimental studies demonstrated that activation of TLR4 on the surface of medullar erythroid progenitors induces cellular apoptosis by activation of proinflammatory cytokines secretion, such as IL17, IL23, TNF alpha (8,18,19). Studies about relationship between TLR4 and anemia on chronic hemodialysis patients are missing.

. 3.2. Correlations of oxidative stress markers with anemia and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients

3.2.1. Aims:

- To analyse the relationship between oxidative stress markers and anemia and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients.
- To evaluate the effect of co-treatment with orally, low doses of vitamin E on erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients

3.2.2. Material and methods

65 chronic hemodialysis patients from Nefromed Dialysis Center Cluj Napoca were included. Patients with bleedings, hemolysis, absolute iron deficiency, neoplasia, folic acid and/or vitamin B12 deficiency, severe hyperparathyroidism (PTH>400 pg/dl), Kt/V<1.2, cirrhosis, congestive heart failure, treatment with statins during the last three months were excluded. 22 healthy volunteers were recruited

Malondialdehyde (MDA) and carbonil proteins were measured as oxidative stress markers and erythrocyte superoxid dismutase (SOD) was measured as antioxidant system. Values of SOD >150 U/ml were considered as normal. Hemoglobin, hematocrit, serum feritine and transferine were determined, rHuEPO doses were noted and rHuEPO responsiveness index was calculated. Patients were divided in three groups: group A with SOD<150UI/ml treated with vitamin E orally 400 mg/day 8 weeks; group B with SOD<150 UI/ml not treated with vitamin E and group C with normal SOD.

Statistical analysis was performed with Sigma Stat program, using t-test, linear regression, ANOVA and Kruskal Wallis tests. Data is presented as mean±SD

3.2.3. Results and discussions

Table 2. Biological characteristics, rHuEPO dose and rHuEPO responsiveness index in the three groups

Characteristic	Group A	Group B	Group C
Hb (g/dl)	8.6 ± 0.6	9.4 ± 0.3	11.4 ± 0.4
Hematocrit (%)	26.1 ± 5.4	28.6 ± 7.3	33.8 ± 6.2
Feritine (ng/ml)	327.6 ± 23.8	385.6 ± 45.5	311.7 ± 36.7
rHuEPO U/kg/week	102.5 ± 14.9	95.2 ± 13.8	50.6 ± 11.8
rHuEPO responsiveness index (UIrHuEPO/week /hematocrit)	271.7 ± 17.3	225.3 ± 19.4	147.6 ± 12.6
Parathormon (pg/ml)	299.4 ± 22.8	255.7 ± 31.6	274.8 ± 26.2
Serum calcium (mEq/l)	4.8 ± 0.4	4.5 ± 0.2	4.6 ± 0.3
Phosphates (mg/dl)	5.9 ± 0.9	6.1 ± 0.5	5.8 ± 0.7

Table 3. Oxidative stress markers in patients with Hb<10 g/dl vs Hb>10 g/dl

Oxidative stress markers	Hb<10 g/dl	Hb>10 g/dl	p
MDA (nmol/ml)	2.1±0.2	1.9±0.1	0.45, NS
Carbonil proteins (mg/g of proteins)	1.01±0.8	1.00±0.8	0.94, NS
Erythrocytes SOD (U/ml)	135.1±5.7	168.1±6.3	<0.001
Ceruloplasmin ((mg/dl)	25.3±2.1	23.7±1.5	0.6, NS

In this study we found a positive correlation of SOD with hemoglobin and a negative correlation with rHuEPO responsiveness index (p=0.012). Some previous studies found a correlation between SOD and hemoglobin while others did not (23-25). MDA and carbonil proteins did not correlate with anemia and rHuEPO responsiveness index in our studies. Previous studies related increased MDA and carbonil proteins in patients with anemia and hemolysis due to increased oxidative stress, but we excluded patients with hemolysis (26-29), so that our results underline the importance of antioxidant system in patients without hemolysis.

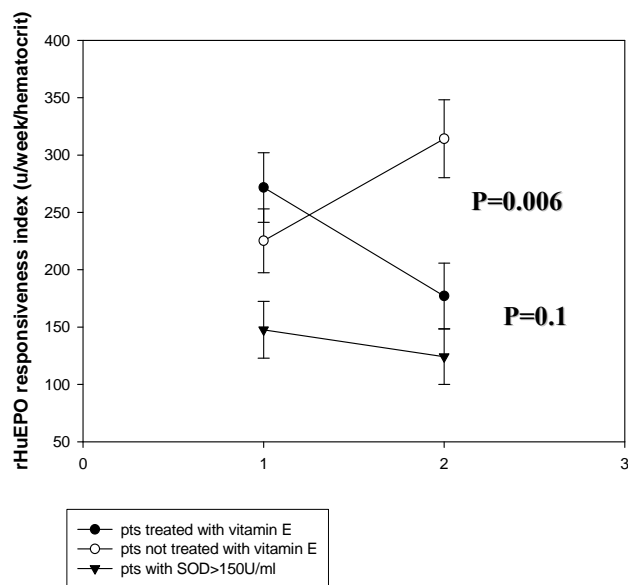


Fig. 2 : rHuEPO responsiveness index in patients from group A as compared with group B and C, before and after co-treatment with vitamin E

Patients treated with vitamin E significantly increased their hemoglobin, decreased their required rHuEPO dose and improved their rHuEPO responsiveness as compared with those not treated as well as with the initial values. Experimental studies demonstrated that vitamin E completes the activity of Sod acting as a scavenger of superoxide (30-33). Our results are important because they demonstrate in vivo the effect of vitamin E supplementation in patients with low values of SOD.

3.3. The role of anemia in progression of chronic kidney disease

3.3.1. Aims:

- To evaluate the correlation of anemia with progression of chronic kidney disease in patients with and without diabetic nephropaty
- To establish the optimal hemoglobin to maintain in order to delay the progression of chronic kidney disease

3.3.2 Material and methods

This study is retrospective. 87 patients admitted in Nephrology Clinic Mihai Manasia Cluj Napoca in 2000-2006 with predialysis chronic kidney disease K/DOQI 2-5 were included. Creatinine clearance was calculated using Cockcroft-Gault formula and rate of progression was calculated as (Creatinine clearance 2- Creatinine clearance1)/no months of follow-up. Patients were divided regarding to proteinuria, K/DOQI stage and hemoglobin. Statistical analysis was performed with Sigma Stat program, using t-test, linear regression, ANOVA and Kruskal Wallis tests. Data is presented as mean±SD

3.3.3. Results and discussions:

Table 4: Biological characteristics of the patients

	Media \pm SD
Proteinurie (g/24h)	3.1 \pm 0.5
Hemoglobina	11.3 \pm 1.9
Albumina serica (g/dl)	3.17 \pm 0.4
Colesterol total (mg/dl)	225.4 \pm 2.8
Acid uric (mg/dl)	5.7 \pm 1.6
Creatinina serica 1 (mg/dl)	2.6 \pm 2.3
Creatinina serica 2 (mg/dl)	3.4 \pm 2.8
Cl creatininic 1 (ml/min)	44.9 \pm 25.8
Cl creatininic 2 (ml/min)	30.4 \pm 22.5
Rata de progresie (DCI/luna)	- 0.9 \pm 0.3

Corelatia hemoglobinei cu rata de progresie

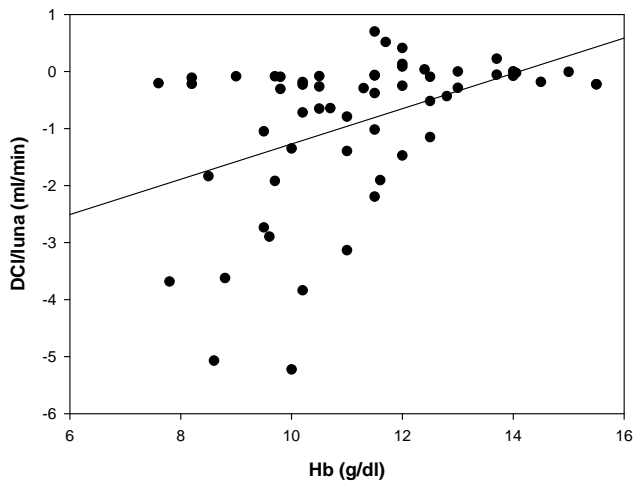


Fig.3: Correlation of hemoglobin with the rate of progression of chronic kidney disease (R0.430, p<0.001)

We found a significant correlation of hemoglobin with progression of chronic kidney disease in all predialytic stages of chronic kidney disease, no matter of type of nephropathy, while other studies were performed only on diabetic nephropathy (34-36).

The rate of progression in patients with Hb <10 g/dl vs Hb 10-11 g/dl was (-)1.15 ml/min/month vs (-)0.8 ml/min/month (p 0.8, NS), in patients with Hb<10 g/dl vs. Hb 11-12 g/dl was (-)1.15 ml/min/month vs 0.58 ml/min/month (p 0.6, NS), while in patients with Hb <10 vs Hb>12 g/dl was (-)1.15 vs (-) 0.4 ml/min/month (p<0.001, SS). Consequently the study showed that even a small decreased in hemoglobin below 12 g/dl may increase the risk of progression of chronic kidney disease. Previous studies showed that risk of progression increases if hemoglobin is lower than 13.8 g/dl and I double if hemoglobin decreases below 11.8 g/dl (34).

3.4. Conclusions

1. Increased CRP correlates with anemia, rHuEPO hyporesponsiveness, increased rHuEPO doses and CRP might be considered as predicity factor for rHuEPO responsiveness.

2. IL17 and hepcidin correlate with anemia, functional iron deficiency, rHuEPO hyporesponsiveness and high doses of administered rHuEPO and as our knowledge the role of IL17 in renal anemia and iron metabolism was not yet published in the

3. Atorvastatin decreased serum hepcidin, ameliorates iron metabolism and hemoglobin, improves rHuEPO responsiveness index in chronic hemodialysis patients. We found no data in the literature about the effect of atorvastatin on anemia and rHuEPO responsiveness in chronic hemodialysis

4. Expression of TLR4>5% correlates with anemia, rHuEPO hyporesponsiveness and increased rHuEPO doses and mechanisms are probably not depended of iron metabolism

5. Patients with low levels of SOD are moore anemic, require higher rHuEPO doses and have poor response to rHuEPO as compare to those with normal values of SOD, by mechanisms independed of hemolysis .

6. Low doses of oraly vitamin E improves rHuEPO responsiveness and ameiorates anemia in patients with low levels of SOD

7 . Anemia is an independed factor for progression of chronic kidney disease in both diabetics and nondiabetics patients and a small decrease of hemoglobin bellow 12 g/dl increases the risk of progression.

References

1. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (suppl 11): 39-43
2. Deicher R, Horl WH. Hepcidin: a molecular link between inflammation and anemia. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 521-524
3. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S et al. The iron regulatory peptide hepcidin: expression and celular localization in the mammalia kidney. *J endocrinol* 2005; 184: 361-370
4. Malyszko J, Malyszko JS, Hryszko T et al. Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *American journal of nephrology* 2005, 6: pp. 586-590

5. Jovcic G, Bugarski D, Krstic A, Vlaski M. The effect of interleukin-17 on hematopoietic cells and cytokine release in mouse spleen. *Physiol Res* 2006
6. Bugarski D, Krstic A, Hojsilovics S. Signaling pathways implicated in hematopoietic progenitor cell proliferation and differentiation. *Exp Biol Med* 2007; 232: 156-163
7. Jovcic G, Bugarski D, Petakov M et al. In vivo effects of interleukin-17 on haematopoietic cells and cytokine release in normal mice. *Cell prolif* 2004; 3: 401-412
8. Maratheftis CI, Andreakos E, Montgopoulus HM et al. Toll-like receptor 4 is up-regulated in hematopoietic progenitor cells and contributes to increased apoptosis in myelodysplastic syndromes. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(4): 1154-1160
9. Danielski M, Ikizler TA, McMonagle E, Kane JC, PupimL, Morrow J, Himmelfarb J: Linkage of hypoalbuminemia, inflammation, and oxidative stress in patients receiving maintenance hemodialysis therapy. *Kidney Int* 2003; 42: 286 –294
10. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad- Boudia M et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radical Biol Med* 1996; 21:845-853
11. Jackson P, Loughrey CM, Lightbody JH et al. Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidants in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1995; 41: 1135-1138
12. Cavdar C, Camsari T, Semin I et al. Lipid peroxidation and antioxidant activity in chronic hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Scand J Urol Nephrol* 1997; 31: 371-375
13. Cruz DN, de Cal M, Ronco C. Oxidative stress and anemia in chronic hemodialysis: the promise of bioreactive membranes. *Contrib Nephrol.* 2008; 161: 89-98.
14. Kalantar-Zadeh K, McAllister C.J., Lehn R.S. et al. Effect of malnutrition-inflammation complex syndrome on EPO hyporesponsiveness in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:761-773
15. Barany P. Inflammation, serum C-reactive protein and erythropoietin resistance. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 224-227
16. Sitter T, Bergner A, Schiffel H. Dialysate related cytokine induction and response to recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1207-1211
17. Eleftheriadis T, Kartsios C, Liakopoulos V et al. Does Heparin Affect Erythropoiesis in Hemodialysis Patients? *Acta Haematol* 2006;116:238-244
18. Baner S, Hangel D, Yu P. Immunobiology of toll-like receptors in allergic disease. *Immunobiology* 2007; 212 (6): 521-533
19. Waibler Z, Kalinke U, Will J et al. TLR-ligand stimulated IL-23 subunit expression and assembly is regulated differentially in murine plasmacytoid dendritic cells. *Mol Immunol* 2007; 44: 1483-1489
20. Kanadasi H, Caylin M, Demirtas M et al. The effect of early statins in treatment of inflammation and cardiac event in acute coronary syndrome. *Heart Vessels* 2006; 21 (5): 291-297
21. Prasad K. C-reactive protein (CRP) lowering agents. *Cardiovasc Drug Rev* 2006; 24 (1): 33-50
22. Goicoechea M, de Vinuesa SG, Lahera V et al. Effects of atorvastatin on inflammatory and fibrinolytic parameters in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (suppl 3)

23. Takahashi K, Cohen HG. Glutathione peroxidase protein, selenium deficiency and correlation with enzymatic activity *J Clin Invest* 1986; 77(4):1402-4.
24. Descamps-Latscha B, Goldfarb B, Nguyen AT et al. Establishing the relationship between complement activation and stimulation of phagocyte oxidative metabolism in hemodialysis patients. *Nephron* 1991; 59: 279-285
25. Tepel M, Echelmeyer M, Orle NN et al. Increased intracellular reactive oxygen species in patients with end-stage renal failure; effect of hemodialysis. *Kidney Int* 2000; 58: 867-872
26. Hasselwander O, Young IS. Oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Res* 1998; 29: 1-11
27. Tetta C, Biasoli S, Schiavon R et al. An overview of hemodialysis and oxidative stress. *Blood Purif* 1999; 17: 118-126
28. Canestrari F, Galli F, Giorgini A et al. Erythrocyte redox state in uremic anemia: Effects of hemodialysis and relevance of glutathione metabolism. *Acta Haematol* 1994; 91: 187-193
29. Westhuyzen J, Saltisi D, Stanbury V. Oxidative stress and erythrocyte integrity in end-stage renal failure patients hemodialysed using vitamin E-modified membrane. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 2003; 33: 3-10
30. Muresan A., Tache S, Orasan R. Oxidanti si antioxidanti. In: *Stresul oxidativ in procese fiziologice si patologice*. Ed Todesco, Cluj Napoca 2006, cap1: 1-27
31. Block G, Dietrich M, Norkus E et al. Factors associated with oxidative stress in human population. *Am J Epidemiol* 2002; 156:274-285
32. Tache S. Capacitatea antioxidanta a organismului. In: D.Dejica, *Antioxidantii si terapia antioxidanta*. Casa Cartii de Stiinta, Cluj Napoca, 2001, cap. 2: 71-101
33. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experim Physiol* 1997; 12:291-295
34. Mohanram A, Zhang Z, Shahinfar S et al. Anemia and end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Kidney Int* 2004 ; 66 :1131-1142
35. Keane WF, Brenner BM, De Zeeuw D et al. The risk of developing end stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Kidney Int* 2003 ; 63(4) : 1499-1507
36. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes : The United Kingdom prospective diabetes study. *Kidney Int* 2003 ; 63(1) : 225-232

Curriculum Vitae

Name, First name: RUSU ANCA ELENA

Birth: 13.11.1975, Medias, jud Sibiu

Adress: Cluj Napoca, str. Eugen Ionesco nr 36/3

e-mail: flaviarusu@yahoo.com

Phone: 0745359321

Workplace: S.C. Rena Clinic SRL Cluj Napoca, specialist in nephrology

Studies:

- 2004-2008: PhD doctor, Nephrology department, UMF Iuliu Hatieganu Cluj Napoca, thesis entitled :Anemia of chronic renal failure: links with inflammation and oxidative stress and role in progression of chronic kidney failure.
- Postgraduate courses:
 - Cluj Napoca –November 2006, November 2005, apryl 2005, February 2005
 - Praga, January 2004; Iasi, June 2003; Budapesta, August 2003
- Faculty of Medicine, University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hatieganu Cluj-Napoca, 2000

Professional experience:

- IVth Medical Clinic Cluj Napoca (2001- 2002),
- Resident in nephrology, Emergency County Hospital Cluj, Nephrology Clinic (2002- 2006),
- Specialist in nephrology from October 2006
- PhD doctor, Nephrology department, UMF Iuliu Hatieganu Cluj 2004-2008
- From November 2008 – member of the team of Dialysis Center SC Rena Clinic SRL Cluj Napoca

Member in proffesional associations: Romania Society of Nephrology ; European Renal Association (ERA-EDTA)

Scientific activity:

- **Articles in extenso**
 - **National journals**

5. **Anca Rusu**, Delia Zalutchi, Simona Racasan, Doina Daicoviciu, Elena Craciun, Adriana Muresan, IMPatiu, Mirela Gherman Caprioara. Erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients with low levels of erythrocyte superoxid dismutase. *Fiziologia* 2008; 18 (57): 252-254.
6. **Anca Rusu**, Simona Racasan, IMPatiu, Anca Cristea, Mirela Gherman. Erythropoietin responsiveness in anemic chronic hemodialysis patients: links with inflammation and malnutrition. *Fiziologia* 2005, 3(47): 21-24
7. Ina Kacso, **Anca Rusu**, Simona Racasan, IM Patiu, R. Orasan, Amalia Rogoian, Carmen Georgescu, Melania Airizer, Diana Moldovan, Mirela Gherman Caprioara. Calcific uremic arteriopathz related to chronic renal failure. A case-control study. *Acta Endocrinologica* 2008; 4: 391-400
8. Vladutiu Dan, Rusu Anca, Spanu Costel, Gherman Mirela, Sfrngeu Silviu, Dudea Sorin. Stenoza de artera renala. Aspecte diagnostice si terapeutice. *Nefrologia* 2004; 9: 103-110

➤ **International Journals**

3. **Anca Rusu**, Simona Racasan ,IMPatiu, Anca Cristea, Mirela Gherman. The influence of inflammation markers on anemia and erythropoietin responsiveness in hemodialysis patients in a dialysis unit from Romania. *BANTAO Journal* 2005; 3(2): 67-69
4. Cucuianu A, Patiu M, **Rusu A**. Hcpidin and multiple myeloma related anemia. *Med Hypotheses*. 2006;66(2):352-354.(ISI)PMID: 16226391 [PubMed - indexed for MEDLINE]

• **Scientific papers in summery**

➤ **National publications**

6. **A. Rusu**, D. Zaluțchi, E. Crăciun, A. Cristea, R. Răhăian, IMPațiu, M. Gherman-Căprioară. Erythrocyte superoxid dismutase and interleukin 17 in anemia and erythropoietin responsiveness of hemodialysis patients. *Fiziologia* 2008; 2(58) volum de rezumate al 10-lea Congres al Societății Române de Științe Fiziologice, Cluj Napoca: p. 64
7. **A. Rusu**, D. Zaluțchi, S.Răcășan, E Crăciun, IMPațiu, M. Gherman Căprioară. Vitamin E therapy and erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis

8. **Anca Rusu**, Simona Răcășan, IMPațiu, Anca Cristea, Mirela Gherman Căprioară. Influența markerilor inflamației asupra anemiei și răspunsului la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic în Clinica de Nefrologie Cluj Napoca. Nefrologia 2005; 27-28. Volum de rezumate, al IV-lea Congres Național de Nefrologie, Craiova 2005: p. 64
 9. **Anca Rusu**, Simona Racasan, Delia Zaluțchi, IMPațiu, Adriana Mureșan, Mirela Gherman Căprioară. Influența markerilor de stress oxidativ și a tratamentului cu vitamina E asupra anemiei și răspunsului la eritropoetină la pacienții hemodializați cronic. Zilele Universității de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu, Cluj Napoca, decembrie 2006.
 10. **Anca Rusu**, Dan Vladutiu, Costel Spanu, Laura Motocu, Alexandru Hagau, Margarit Stanescu, Sorin Ducea, Gabriel Andries, Silviu Sfrangeu, Mirela Gherman Caprioara. Diagnosticul si tratamentul hipertensiunii arteriale renovasculare in Cluj Napoca. Nefrologia 2004; 8(22): 355
- **International publications**
5. **Anca Rusu**, Ina Kacso, Anca Cristea, Rodica Rahaian, Ioan Mihai Pațiu, Mirela Gherman Căprioară. Interleukin 17 and hepcidin in anemia and erythropoietin responsiveness in chronic kidney disease patients treated with hemodialysis. Scandinavian Journal of Immunology 2008; 68 (2). 38th Congress of Scandinavian Society for Immunology, Stockholm 2008: p.204
 6. **Anca Rusu**, Simona Răcășan, Delia Zaluțchi, IMPațiu, Adriana Mureșan, Mirela Gherman Căprioară. The influence of oxidative stress and vitamin E therapy on erythropoietin responsiveness in chronic hemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 2006; 21 (suppl 4), XLIII Congress of the European Renal Association-European Dialysis and Transplant Asociation, Glasgow 2006: p. iv 151. ISSN 0931-0509
 7. **Anca Rusu**, Simona Racasan ,IMPatiu, Anca Cristea, Mirela Gherman. The influence of inflammation markers on anemia and erythropoietin responsiveness

8. Simona Racasan, **Anca Rusu**, Anca Cristea, IMPatiu, Mirela Gherman Caprioara. Correlation between interleukin 18, C-reactive protein and serum albumin in chronic hemodialysis patients in a dialysis unit from Transylvania. XLI ERA-EDTA Congress, Lisbon, Portugal, 2004

- **Participant as first author with oral communications and posters at national and internationals congresses and symposiums** (Scandinavian Congress of Immunology, Stockholm 2008, National Congress of Physiology, National Congress of Nephrology Cluj Napoca 2008, , European Congress of Nephrology ERA-EDTA Glasgow 2006, National Congress of Nephrology Craiova 2005, National Congress of Nephrology Cluj Napoca 2004, Zilele UMF Iuliu Hatieganu Cluj Napoca 2005 and 2006)
- **Grant CNCSIS for young Ph doctors 2007-2008**

Languages: Romanian, English, French