

## ОКСИДАТИВЕН СТРЕС ПРИ ПАЦИЕНТИ НА ХРОНИЧНА ХЕМОДИАЛИЗА

В. Манолов<sup>1</sup>, Д. Йонова<sup>2</sup>, Е. Възелов<sup>2</sup>, В. Василев<sup>1</sup>, И. Георгиева<sup>2</sup>, И. Трендафилов<sup>2</sup>, В. Папазов<sup>2</sup> и К. Цачев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ – София

<sup>2</sup>Клиничен център по диализа, УМБАЛ „Александровска“, МУ – София

## OXIDATIVE STRESS IN CHRONIC DIALYSIS PATIENTS

V. Manolov<sup>1</sup>, D. Yonova<sup>2</sup>, E. Vazelov<sup>2</sup>, V. Vasilev<sup>1</sup>, I. Georgieva<sup>2</sup>, I. Trendafilov<sup>2</sup>, V. Papazov<sup>2</sup> and K. Tzatchev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, Medical University – Sofia

<sup>2</sup>Clinical Center of Dialysis, Medical University – Sofia

### Резюме:

Хроничните бъбречни заболявания (ХБЗ) се характеризират с комплекс от изменения в клетъчния метаболизъм, водещи до оксидативен стрес (ОС). В последните години са събрани доказателства за ключовата роля на ОР в много фундаментални клетъчни реакции и показват, че ОС може да играе важна роля в патофизиологията на генерализирани заболявания, включващи атеросклероза, ХБЗ, захарен диабет, малигнени заболявания, както и в процеса на стареене. Микроелементите селен (Se), мед (Cu) и цинк (Zn) изпълняват антиоксидативни функции чрез протеините, в които те са включени. Антиоксидантните ензими са: супероксид дисмутази (SOD), каталази (CAT) и глутатион пероксидази (GSH-Px). При здрави хора бъбреците играят важна роля в хомеостазата на няколко микроелемента, включително Se. Цинкът е есенциален микроелемент за функционирането на над 300 каталитично активни цинкови металопротеини. Той участва във всички основни биохимични процеси в организма. Цинкът е вторият по съдържание микроелемент в организма след желязото. Медта е есенциален микроелемент за всички живи организми. Тя има различно съдържание в почвата и водата в различни региони на земното кълбо. Основни звена в метаболизма на Mg в човешкото тяло са гастроинтестиналният тракт и бъбреците. В гастроинтестиналният тракт той се абсорбира от храната, а елиминирането му се осъществява с урината. Хепсидинът е ключов регулаторен протеин, който контролира чревната абсорбция на желязо и разпределението му в организма. Той е пептиден хормон, който се синтезира в черния дроб в отговор на редица сигнали, включително и нивата на желязо в организма. Хепсидинът функционира чрез свързване и инициализиране деградация на молекулата на феропортина, единственият известен експортер на желязо. Наличието на анемичен синдром и оксидативен стрес са безспорни патологични състояния, съпътстващи хроничните бъбречни заболявания, особено в терминалните им фази и пациентите на диализно лечение. От друга страна, при значителна част от болните на диализа се установяват абнормни нива на някои важни микроелементи – Zn, Se, Cu, както и на магнезий и един наскоро открит регулатор на желязния метаболизъм – хепсидин, и между всички изброени състояния са намерени взаимни връзки и влияния.

### Ключови думи:

оксидативен стрес, анемия, хепсидин, микроелементи, хемодиализа

### Адрес за кореспонденция:

Д-р Виктор Манолов, дм, Катедра по Клинична лаборатория и клинична имунология, МУ, ул. „Св. Г. Софийски“ № 1, 1431 София, тел. 02 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com

<b>Abstract:</b>	Chronic kidney disease (CKD) is characterised by the complex of cell metabolism changes, leading to oxydative stress (OS). In recent years it is well known that OS plays a major role in pathophysiology in diseases as atherosclerosis, CKD, diabetes mellitus, malignancies and even in aging. Trace elements selenium (Se), copper (Cu) and zinc (Zn) play a significant role in antioxidant defending system of organism. Their antioxidative function is expressed through proteins, in which they are included. Main antioxidant enzymes are superoxide dismutase (SOD), catalases (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px). In healthy population, kidneys are involved into hemostasis of few trace elements, including Se. Zn is essential for human body and is involved into more than 300 metaloproteins. Zn is the second important trace element after iron. Cu is essential for organism, too. It has different content in soil and water in different regions of the globe. Gastrointestinal tract and kidneys are basic units in the metabolism of magnesium (Mg) in human body. In the gastrointestinal tract it is absorbed from food. Hcpidin is a key regulatory protein of iron intestinal absorption. It is a peptide that is synthesized in liver. It acts through connection to the only known iron intracellular exporter – ferroportin. Anemia and oxidative stress are conditions that always accompany chronic kidney diseases, especially in their terminal phases (patients on chronic dialysis). In these cases abnormal levels of some important trace elements – Zn, Se, Cu, and Mg, are observed. Hcpidin concentrations are also elevated in CKD. Reciprocal links and influences are found between all these conditions.
<b>Key words:</b>	oxidative stress, anemia, hepcidin, trace elements, hemodialysis
<b>Address for correspondence:</b>	<i>Victor Manolov, MD, PhD, Dept. of Clinical Laboratory and Clinical Immunology MU, 1 "Sv. Georgi Sofiyski" Str. Bg – 1431 Sofia, tel.: +3592 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com</i>

Хроничните бъбречни заболявания (ХБЗ) се характеризират с комплекс от изменения в клетъчния метаболизъм, водещи до оксидативен стрес (ОС), т.е. повишена продукция на оксидативни радикали (ОР), които могат да играят ключова роля за редица клинични усложнения при тази патология.

При нормални условия в живите организми окислителният метаболизъм води до формиране на високореактивни междинни продукти, наречени оксидативни радикали, които са опасни за клетките [1]. При здрави хора съществува баланс между продукция и разграждане на ОР. ОР включват супероксиден анион ( $O_2^-$ ), хидроксилни радикали (ОН), перхидроксилни радикали ( $HO_2$ ) и обикновен кислород ( $O_2$ ). Според някои учени водородният диоксид ( $H_2O_2$ ) също принадлежи на тази група, защото лесно пенетрира мембраните и в присъствието на някои метали в преходна форма (мед и желязо) може да бъде редуциран до хидроксилен радикал. Хидроксилните радикали са най-силните оксиданти, генерирани в биологичните системи заради техния екстремно къс полуживот [1, 2]. Високореактивните хидроксилни радикали лесно взаимодействат с други молекули. Принципно увреждащият ефект на излишъка от оксидативни радикали върху клетките най-често включва увреж-

дане на ДНК, окисляване на полиненасатурираните мастни киселини (PUFA) в липиди (липидна пероксидация), окисляване на аминокиселините (АК) в протеини и оксидативно инактивиране на специфични ензими чрез окисляване на кофакторите [3, 4]. ОР образуват странични продукти, подобни на натуралните от нормалния метаболизъм на кислорода и имат важна роля при клетъчното сигнализиране. При стрес от околната среда (напр. ултравиолетова или топлинна експозиция) ОР могат драматично да се увеличат, което може да доведе до значимо увреждане на клетъчните структури. Такава акумулация е известна като оксидативен стрес. Йонизиращата радиация като екзогенен източник също генерира ОР.

В последните години са събрани значително количество доказателства за ключовата роля на ОР в много фундаментални клетъчни реакции и те внушават, че ОС може да играе важна роля в патофизиологията на генерализирани заболявания, включващи атеросклероза, ХБЗ, захарен диабет, малигнени заболявания, както и в процеса на стареене [5]. Доказано е, че болните с ХБЗ са в значимо по-висок риск от сърдечно-съдови (ССЗ), атеросклероза и онкологични заболявания, отколкото съответните възрастово хора от обща-

та популация. При тях с прогресирането на ХБЗ намалява ефикасността на антиоксидантната защитна система с максимум в крайния стадий на ХБЗ. Увеличаването на оксидативния стрес може да бъде забавено чрез нарастване ефективността на естествената антиоксидантна система [6]. Антиоксидантните ензими са: супероксид дисмутази (SOD), каталази (CAT) и глутатион пероксидази (GSH-Px) [7]. SODs играят централна роля в катализирането на спонтанната дисмутация на супероксидната продукция на кислород и  $H_2O_2$ . Тъканни хомогенати от хронично отхвърлян човешки бъбречен алографт показват понижена активност на MnSOD и повишена експресия на MnSOD протеин [8]. Молекулният механизъм в индукцията на MnSOD при оксидативен стрес още трябва да се изяснява. Протекцията чрез SOD не е постигната напълно, ако  $H_2O_2$  не е разградена впоследствие.

Екзогенните нискомолекулни антиоксиданти включват витамини (А, С и Е), каротини, глутатион (GSH), пикочна киселина, билирубин и няколко микроелемента (селен, мед и цинк) [5]. Трипептидът глутатионсулфат (GSH) основно е разглеждан като интрацелуларен антиоксидант и играе съществена роля в клетките. Като най-разпространен антиоксидант вътре в клетката, GSH може директно да отстранява свободни радикали. Витамин Е е най-разпространеният антиоксидант в природата. Измежду най-малко осем структурни изомера на токоферол алфа-токоферол е най-известен и притежава най-голяма антиоксидантна активност. Той е високоефективен в осигуряване на защита срещу липидната пероксидация на мембраните чрез взаимодействие с липидните пероксидни радикали [1]. При пациенти с ХБН нивото на вит. Е е понижено и суплементацията му потиска оксидативния стрес. По същия начин вит. С може да бъде ефективен в редуциране на случаите с усложнения при пациенти на хемодиализа [9]. При пациенти на ХД плазменият малондиалдехид (MDA), който е крайно съединение от оксидацията на PUFA, е повишен [10].

Многобройни проучвания показват, че формирането на микроелемент-съдържащи съединения (главно ензими), а не елементите по същество, са критични за биологичните активности. Микроелементите Se, Cu, и Zn играят основна роля в антиоксидантната защитна система. Те изпълняват антиоксидативни функции чрез протеините, в които те са включени [11]. Se е компонент на около 25 ензима, включително и на GSH-Px семейството, тиоредоксин редуктазите и селенопротеин Р, който осигурява антиоксидантна активност срещу предизвиканото от ОР отключване

и развитие на канцерогенеза, както и някои други ензими [12]. Два други елемента, Zn и Cu, са включени в SOD. Cu е също и компонент на няколко други ензими като церулоплазмин и цитохром оксидаза [13]. Дефицитът на Cu води до повишена продукция на свободни радикали и може да подпомогне липидната пероксидация [14]. Zn е свързан с много протеини, от които няколко са ензими [15]. Всичките тези ензими участват в метаболизма на нуклеинови киселини, протеини, въглеводороди и др.

При здрави хора бъбреците играят важна роля в хомеостазата на няколко микроелемента, включително Se [16]. Когато Se се консумира в степен, близка до човешките хранителни нужди, неговите най-високи нива са открити в бъбреците, последвани от черния дроб [7].

Свободните радикали увреждат различни тъкани или органи, следователно микроелементите и токсичните елементи постъпват в различни органи. При пациенти с ХБЗ в терминални стадии нивата на кадмий, хром, мед, олово и ванадий са по-високи, а нивата на селен, цинк и магнезий са по-ниски от нивата на същите елементи при здрави хора. Няколко автори показват постепенно понижаване на селеновото ниво заедно с прогресирането на заболяването [17]. Zachara и сътр. [18] в свое изследване на голяма група пациенти с ХБЗ показват сигнификантна обратна корелация между концентрациите на плазмения селен и плазмения креатинин ( $r = -0.380$ ;  $P < 0.0001$ ).

Yoshimura и сътр. [19] показват, че ниската плазмена концентрация на GSH-Px протеин може би се отдава на нарушения биосинтез на този ензим в бъбрека. Има оскъдни публикации относно ефекта на селенова суплементация при пациенти с ХБЗ на консервативно и диализно лечение, както и относно влиянието на селеновия дефицит върху образуването и разграждането на червените кръвни клетки и повлияването на анемичния синдром.

Цинкът е есенциален микроелемент за функционирането на над 300 каталитично активни цинкови металопротеини и на повече от 2000 цинк-зависими транскрипционни фактори [20]. Той участва във всички основни биохимични процеси в организма. Установен е във всички тъкани и във всички телесни течности [20] и е вторият по съдържание микроелемент в организма след желязото. Цинкът се съдържа предимно в мускулите, костите, кожата и косата, черния дроб, стомашно-чревния тракт, панкреаса и бъбреците. Като основни депа на цинк в човешкия организъм се считат черният дроб и бъбреците. Цинкът е представен също и в плазмата, еритроцити и левкоцити. На клетъчно ниво ролята

на Zn се разглежда в три аспекта: 1. каталитична (функционална) – функционален компонент в каталитичния център (активно място) на цинк-съдържащите металоензими; 2. структурна – участие в протеиновата структура; и 3. регулаторна – регулация на генната експресия на различни протеини, участие в транскрипцията, клетъчното сигнализиране, секрецията на хормони и апоптозата [20]. Интерес представлява въпросът за статуса на Zn при състояния на желязо-дефицитна анемия (ЖДА). При ЖДА са изследвани редица микроелементи – желязо, мед, селен, в това число и цинк. Литературните данни по отношение на цинка при анемия са противоречиви. Редица автори установяват, че състоянията на ЖДА се асоциират с дефицит на цинк, т.е. намират линейна зависимост между статуса на микроелементите желязо и цинк в организма [21]. Някои автори представят като вероятен механизъм, обясняващ дефицита на цинк при състояния на анемия, наличието на съвместно съществуващ хранителен дефицит на микроелементите желязо и цинк, обусловен от общите им източници в храната – главно животинските и белтъчни храни [21]. Това е релевантна причина особено при болни с ХБЗ в преддиализен стадий поради необходимостта от нискобелтъчни диети и при болни на диализа, поради загубата на серумни аминокиселини и белтъци при повечето диализни методи за извънбъбречно почистване на кръвта.

Медта (Cu) е есенциален микроелемент за всички живи организми. В природата той е разпространен навсякъде. Cu трябва да се набавя с храната, хранителните добавки и напитките. Тя има различно съдържание в почвата и водата в различни региони на земното кълбо. Всяка клетка в човешкото тяло утилизира Cu и заедно с желязото и цинка осигурява нормалното състояние на организма на клетъчно ниво. Особено значение тя има за функционирането на мозъка, нервната и сърдечно-съдовата система, черния дроб, костите и мускулите (в тях се съдържа около 50% от телесната мед). Медта е включена в няколко ензима, участващи в образуването на хемоглобин, въглехидратния метаболизъм, биосинтеза на катехоламини, на кръстосаните връзки на колагена, еластина и космения кератин [22, 23]. След като се абсорбира, основно се свързва с церулоплазмина и се отлага главно в хепатоцитите на черния дроб, а по-малки количества – в бъбреците. Билиарна екскреция е основният път за отделянето му; малки количества се секретират в урината.

Съществуват противоречиви данни за съдържанието на мед в кръвния серум при анемия. Резултатите от някои проучвания при деца с ЖДА [24], показват повишени серумни концентрации

на мед. Авторите заключават, че високи нива на мед намаляват абсорбцията на желязо и допълнително влошават хематологичните показатели. Противоречиви резултати са получени по отношение на медта в експериментални изследвания на оксидативен стрес. Когато хранителният прием на Cu е нисък, са наблюдавани неблагоприятни промени на холестерола в кръвта –увеличение на общия и LDL и намаляване на HDL холестерола. Противоречиви данни съществуват в литературата до настоящия момент относно статуса на медта при пациенти с ХБЗ. Все пак повечето автори намират, че тя е повишена в серума на болните с ХБЗ и тези на диализа, без да е намерено задоволително обяснение на това явление.

По количествено съдържание в клетките на човека магнезият (Mg) е втори елемент след калия, а в човешкия организъм е четвърти. Той е един от важните катиони в тялото на човека, който практически участва в повечето клетъчни функции: енергийното складиране, пренос и използване на енергията; метаболизма на белтъците, мастите и въглехидратите; поддържане функциите на клетъчните мембрани и на паратиреоидните жлези. Mg снижава периферната резистентност на кръвоносните съдове и понижава кръвното налягане. При нарушен магнезиев метаболизъм се засягат функциите на почти всички органи с много сериозни усложнения, като спазъм на коронарните артерии, сърдечни аритмии, мускулни спазми, гърчове и др. Основни звена в метаболизма на Mg в човешкото тяло са гастроинтестиналният тракт и бъбреците. В гастроинтестиналният тракт той се абсорбира от храната, а елиминирането му се осъществява с урината. Извънклетъчният магнезий е в равновесие с магнезия в костите, мускулите, червата, черния дроб и меките тъкани. Върху тубулната реабсорбция на магнезия оказва влияние и редуцирането на гломерулната филтрация. Всяко намаляване на гломерулната филтрация води до намаляване и на фракционираната магнезиева реабсорбция в тубулите, така че серумният магнезий да остане в нормални граници. Това равновесие се нарушава едва при терминалните фази на бъбречна недостатъчност. Поради важната роля в повечето процеси в човешкия организъм и преобладаването на магнезиевия дефицит, а не на магнезиевото пренатоварване, в болестните състояния на човешкото тяло по-добре са проучени състоянията на магнезиев дефицит.

До момента няма убедителни литературни данни за влияние на магнезиевия дефицит върху оксидативния стрес (ОС), но има единични публикации върху *in vitro* и *in vivo* (опитни животни),

сочещи увеличаване на оксидативните радикали и други метаболити на ОС.

Хепсидинът е ключов регулаторен протеин, контролиращ чревната абсорбция на желязо и разпределението му в организма [25]. Той е пептиден хормон, който се синтезира в черния дроб в отговор на редица сигнали, включително и нивата на желязо в организма. Хепсидинът функционира чрез свързване и инициализиране на деградация на молекулата на феропортина, единствения известен експортер на желязо. Феропортинът е разположен трансмембранно в дуоденалните ентероцити, макрофаги и хепатоцити. Той регулира трансфера на клетъчното желязо в плазмата от тези клетки [26, 27]. Като малък пептид, който не изглежда да е свързан в голяма степен с плазмените протеини, хепсидинът се елиминира от плазмата чрез бъбреците чрез феропортин-медиран ендцитоза и протеолиза. Съответно, концентрации на плазмените нива на хепсидина могат да се увеличават при болестни процеси, които намаляват клирънса на хепсидина от бъбреците [28]. Високите нива на желязо в циркулацията стимулират синтеза на хепсидин в черния дроб. Повишеният хепсидин намалява чревната абсорбция на желязо и блокира износа му от тъканните депа – така се избягва свръхнатрупване на желязо в организма. От друга страна, понижените нива на желязо потискат синтеза на хепсидин, а това стимулира усвояването на желязото през дуоденалните ентероцити и освобождаването му от тъканните депа. В допълнение към увеличените циркулиращи нива на желязо възпалителните цитокини са мощни стимулатори на синтеза на хепсидин, които играят основна патогенна роля във функционалния недостиг на желязо при анемия на хроничните заболявания (АХЗ). АХЗ е добре позната клинична единица, която често се наблюдава при пациенти с различни заболявания: анемия от инфекция, анемия при злокачествено заболяване, анемия при ревматоиден артрит и анемия при хронично бъбречно заболяване. Хематологичните характеристики на АХЗ се различават от типичните ЖДА без възпаление. При ЖДА еритропоезата е стимулирана с поддържане на достатъчно ниво на кислород, като се наблюдават микроцитни и хипохромни червени кръвни клетки. За разлика от нея АХЗ обикновено е нормохромна и нормоцитна анемия и обикновено без микроцитоза, освен ако няма едновременно и желязен дефицит [27]. Счита се, че нормоцитната анемия се дължи на възпаление, което предизвиква намаляване на еритропоезата. Възпалителните цитокини предизвикват промени в разпределението на желя-

зо. Пациенти с АХЗ имат ниска серумна концентрация на желязо, нисък или нормален тотален желязо-свързващ капацитет и ниска сатурация на трансферин, както и нисък брой на ретикулоцити [27]. Важно е да се отбележи, че ключова характеристика на АХЗ е натрупването на желязо в клетките на ретикуло-макрофагеалната система въпреки намалените серумни нива на желязо. По този начин не съществува необходимото ниво на циркулиращо желязо за синтез на хемоглобин, дори и при адекватни или високи нива на желязо в депата на организма. Вероятно това е защитен механизъм за изолиране на желязо като превенция срещу определени патогенни нашествия, много от които изискват желязо за своето развитие [27]. Въпреки това отклоняването на желязо от кръвообращението в макрофагите ефективно причинява функционален недостиг на желязо и ограничение на еритропоезата, което в крайна сметка, ако не бъде коригирано, води до анемия.

Анемията е често усложнение при пациенти на поддържаща хемодиализа и допринася за намаляване качеството на живот [29]. Въпреки големия успех на рекомбинантния човешки еритропоетин (ЕПО) в клиничната практика за лечение на анемия при пациенти на диализа (хронично бъбречно заболяване), устойчивостта на тази терапия е около 10-20% [30]. Недостигът на желязо е честа причина за резистентността към ЕПО [31]. Важно е да се направи точна оценка на статуса на желязо, защото както анемията, така и свръхдозите от еритропоетин-стимулиращи агенти (ESA) са свързани с неблагоприятни клинични последици [32]. Дефинирането на статуса на желязен дефицит при пациенти на хемодиализа обаче е по-сложно, отколкото в общата популация и не характеризира надеждно обмяната на желязо [33]. Серумният феритин, маркер за тъканните депа на желязо, продължава да бъде полезен. Тълкуването на серумните нива на феритин изолирано е трудно, защото феритинът играе роля и в остра фаза; той често е повишен независимо от тъканните нива на депата на желязо при пациенти на поддържаща хемодиализа [30]. Освен това аналитичните и индивидуалните вариации на серумния феритин ограничават полезността като тест за охарактеризиране на желязния статус [32]. Това води до търсене на по-надеждни маркери за охарактеризиране хомеостазата на желязото при тези пациенти. Серумният хепсидин се очертава като перспективен кандидат [34]. Необходимо е установяването на по-задълбочени данни за концентрация и регулиране на серумен хепсидин при пациенти на поддържаща хемодиализа, както и приноса на серумния хепсидин в патогенезата на бъбречната анемия.

В заключение, от една страна, анемичният синдром и оксидативният стрес са безспорни патологични състояния, съпътстващи хроничните бъбречни заболявания, особено в терминалните им фази и пациентите на диализно лечение. От друга страна, има достатъчно литературни данни и лични наблюдения на авторите, че при значителна част от болните на диализа се установяват абнормни нива на някои важни микроелементи – Zn, Se, Cu, както и на магнезий, и наскоро открития регулатор на желязния метаболизъм – хепсидин, и между всички изброени състояния са намерени или подозирани взаимни връзки и влияния. Това дава основание за реализиране на предложения от нас проект за изясняване на неизяснените до момента съотношения между нарушените баланси и възможността за терапевтичното им повлияване при контингента болни на диализно лечение.

### Библиография

1. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev.* 1994;74(1):139-62.
2. Fantel AG. Reactive oxygen species in developmental toxicity: Review and hypothesis. *Teratology* 1996; 53:196-217.
3. Brenneisen P, Steinbrenner H et Sies H. Selenium, oxidative stress, and health aspects. *Mol Aspects Med.* 2005; 26:256-267.
4. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Internat. J Biochem Cell Biol.* 2007; 39:44-84.
5. Young IS and Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54:176-186.
6. Meydani, M. Antioxidants in the prevention of chronic diseases. *Nutr Clin Care* 2002; 5:47-49.
7. Zachara BA, Gromadzinska J, Wasowicz W et Zbrog Z. Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: A review. *Acta Biochim Polon.* 2006; 53:663-677.
8. MacMillan-Crow LA, Crow JP, Kerby JD et al. Nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in chronic rejection of human renal allografts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93:11853-11858.
9. Del Vecchio L, Locatelli F et Carini M. What we know about oxidative stress in patients with chronic kidney disease on dialysis – clinical effects, potential treatment, and prevention. *Semin Dial.* 2011; doi: 10.1111/j.1525-39X.2010.00819.x.
10. De Vecchi AF., Bamonti F, Novembrino C et al. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24:2524-2529.
11. El-Bayoumy K. The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. *Mutat Res.* 2001; 475:123-129.
12. Brozmanova J, Manikova D, Vickova V, et al. Selenium: a double-edged sword for defense and offence in cancer. *Arch Toxicol.* 2010 Dec;84(12):919-38.
13. L'Abbe MR, Friel JK. Copper status of very low weight infants during the first twelve months of infancy. *Pediatr Res* 1992; 32:183-8.
14. Lai CC, Huang WH, Klevay LM, et al. Antioxidant enzyme gene transcription in copper-deficient rat liver. *Free Radic Biol Med.* 1996;21(2):233-40.
15. Valee BL. Thionein/metallothionein – a metabolic link. *J Trace Elem Exp Med.* 2001; 14:368-369.
16. Wasowicz W. et Zachara B. Selenium concentration in the blood and in urine of a healthy Polish sub-population. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1987; 25:409-412.
17. Zachara BA, Salak A, Koterska D, et al. Selenium and glutathione peroxidases in blood of patients with different stages of chronic renal failure. *J Trace Elem Med Biol* 2004; 17:291-299.
18. Zachara BA, Wlodarczyk Z, Masztalerz M et al. Selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in blood of patients before and after allogenic kidney transplantation. *Biol Trace Elem Res* 2004, 97:1-13.
19. Yoshimura S, Suemizu H, Nomoto Y, et al. Plasma glutathione peroxidase deficiency caused by renal dysfunction. *Nephron* 1996, 73:207-211.
20. Gibson R, Heath AL. Population groups at risk of zinc deficiency in Australia and New Zealand. *Nutr Dietetics*, 2011, 68: 97-108.
21. Cole C R, Conrad RC, Frederick KG et al. Zinc and iron deficiency and their interrelations in low-income African American and Hispanic children in Atlanta. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91: 1027-1034.
22. Mac Pherson IS, Rosell FI, Scofield M et al. Directed evolution of copper nitrite reductase to a chromogenic reductant. *Protein Eng Design Selection*, 2010; 23(3): 137-145.
23. Rolff M, Tuczek F. How Do Copper Enzymes Hydroxylate Aliphatic Substrates? Recent Insights from the Chemistry of Model Systems. *Angew Chem*, 2008; 47(13): 2344-2347.
24. Turgut S, Polat A, Inan M et al. Interaction between anemia and blood levels of iron, zinc, copper, cadmium and lead in children. *Ind J of Pediatrics*, 2007; 74(9): 827-30.
25. Ganz T. Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011;117:4425-4433.
26. Ramey G, Deschemin JC, Durel B. Hepcidin targets ferroportin for degradation in hepatocytes. *Haematologica* 2010;95:501-504.
27. Sun CC, Vaja V, Babitt JL, Lin HY. Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *Am J Hematol.* 2012;87(4): 392-400.
28. Zaritsky J, Young B, Wang HJ, et al. Hepcidin – a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2009; 4:1051-1056.
29. Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Antoniadi G, et al. The role of hepcidin in iron homeostasis and anemia in hemodialysis patients. *Semin Dial* 2009; 22: 70-77.
30. Hasuike Y, Nonoguchi H, Tokuyama M, et al. Serum ferritin predicts prognosis in haemodialysis patients: the Nishinomiya study. *Clin Exp Nephrol* 2010; 14: 349-355.
31. Lankhorst CE, Wish JB. Anaemia in renal disease: diagnosis and management. *Blood Rev* 2010; 24: 39-47.
32. Ford BA, Coyne DW, Eby CS, et al. Variability of ferritin measurements in chronic kidney disease; implications for iron management. *Kidney Int* 2009; 75: 104-10.
33. Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr* 2010; 30: 105-122.
34. Hamada Y, Fukagawa M. Is hepcidin the star player in iron metabolism in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2009; 75: 873-874.

Постъпил за печат на 29 ноември 2016 г.

### Благодарности

Настоящият проект е осъществен с финансова подкрепа на Медицински университет – София, „Стимулиране на научни изследвания в области с постигнати високи научни постижения“, Договор № 1-С/2016 г.