



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA“ DIN BUCUREȘTI



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ

*EFECTELE ADMINISTRĂRII INTRAVENOASE  
DE FIER ASUPRA ENDOTELIULUI ȘI A UNOR  
PARAMETRI AI STRESULUI OXIDATIV LA  
PACIENȚI CU BOALĂ CRONICĂ DE RINICHI*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF.UNIV.DR.GABRIEL MIRCESCU**

**Student-doctorand:**

**ANA-MARIA MEHEDINȚI**

**2023**

## CUPRINSUL TEZEI

<b>INTRODUCERE</b> .....	13
<b>I. PARTE GENERALĂ</b> .....	16
<b>1. Endoteliul – structură și funcții</b> .....	17
1.1. Celulele endoteliale .....	17
1.2. Glicocalixul .....	17
1.3. Membrana bazală a endoteliului.....	18
1.4. Joncțiunile intercelulare.....	18
1.5. Heterogenitatea.....	18
1.6. Funcțiile endoteliului.....	19
<b>2. Disfuncția endotelială</b> .....	21
2.1. Definiție.....	21
2.2. Metode de evaluare.....	21
<b>3. Disfuncția endotelială în Boala Cronică de Rinichi</b> .....	24
3.1. Relația Boala cronică de rinichi – Disfuncție endotelială .....	24
3.2. Patogenia disfuncției endoteliale în Boala Cronică de Rinichi. Relația disfuncție endotelială-stres oxidativ-inflamație .....	25
3.3. Stresul oxidativ și disfuncția endotelială.....	25
3.3.1. Stresul oxidativ în BCR.....	26
3.3.2. Stresul oxidativ și disfuncția endotelială în BCR.....	27
3.4. Inflamația și disfuncția endotelială.....	27
3.4.1. Inflamația în BCR .....	27
3.4.2. Etiologia inflamației în BCR.....	27
3.4.3. Rolul inflamației în disfuncția endotelială în BCR.....	28
3.5. Rolul toxinelor uremice în disfuncția endotelială .....	28
3.5.1. Definiție și clasificare.....	28

3.5.2. Efectele toxinelor uremice asupra endoteliului.....	28
3.6. Rolul acidozei metabolice în disfuncția endotelială.....	29
3.7. Rolul anomaliilor metabolismului mineral și osos în disfuncția endotelială .....	29
3.8. Disfuncția endotelială la vârstnic .....	29
3.9. Disfuncția endotelială în diabetul zaharat .....	29
3.10. Disfuncția endotelială în HTA.....	30
<b>4. Efectele tratamentului cu fier asupra funcțiilor endoteliale în BCR.....</b>	<b>30</b>
4.1. Date generale .....	30
4.2. Eficiența tratamentului cu fier în BCR .....	32
4.3. Profilul de siguranță al tratamentului cu fier .....	34
4.4. Fierul endogen și disfuncția endotelială .....	36
4.5. Fierul administrat parenteral și disfuncția endotelială.....	36
4.6. Agenții stimulatori ai eritropoiezei și disfuncția endotelială.....	45
<b>II. CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>	<b>46</b>
<b>5. Ipoteza de lucru și obiectivele generale .....</b>	<b>47</b>
<b>6. Efectul terapiei de lungă durată cu fier intravenos asupra morbidității la pacienții cu BCR hemodializați .....</b>	<b>51</b>
<b>6.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice) .....</b>	<b>51</b>
6.1.1. Obiective specifice .....	51
<b>6.2. Materiale și metode .....</b>	<b>52</b>
6.2.1. Tipul studiului .....	52
6.2.2. Subiecți.....	52
6.2.3. Metode.....	52
6.2.4. Analiză statistică .....	53
<b>6.3. Rezultate.....</b>	<b>54</b>

<b>6.4. Discuții</b> .....	57
<b>6.5. Concluzii</b> .....	59
<b>7. Efectul acut al fierului sucroză asupra stresului oxidativ la pacienți cu BCR hemodializați</b> .....	60
<b>7.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)</b> .....	60
7.1.1. Obiective specifice .....	60
<b>7.2. Materiale și metode</b> .....	61
7.2.1. Tipul studiului .....	61
7.2.2. Subiecți.....	61
7.2.3. Metode.....	62
7.2.4. Analiză statistică .....	71
<b>7.3. Rezultate</b> .....	71
7.3.1. Parametrii antioxidanți eritrocitari .....	73
7.3.2. Parametrii antioxidanți plasmatici.....	77
7.3.3. Parametrii producției crescute de radicali liberi.....	80
<b>7.4. Discuții</b> .....	82
7.4.1. Impactul asupra sistemului antioxidant eritrocitar .....	83
7.4.2. Impactul asupra sistemului antioxidant plasmatic .....	85
7.4.3. Impactul asupra indicatorilor producției crescute de radicali liberi .....	88
<b>7.5. Concluzii</b> .....	92
<b>8. Efectul acut a două preparate de fier intravenos asupra funcției endoteliale la pacienții cu BCR nedializați</b> .....	93
<b>8.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice)</b> .....	93
8.1.1. Obiective specifice .....	94
<b>8.2. Materiale și metode</b> .....	94
8.2.1. Tipul studiului .....	94

8.2.2. Subiecți.....	94
8.2.3. Metode.....	95
8.2.4. Analiză statistică .....	99
<b>8.3. Rezultate</b> .....	99
<b>8.4. Discuții</b> .....	103
<b>8.5. Concluzii</b> .....	106
<b>9. Disfuncția endotelială și stresul oxidativ după o doză unică intra-venos de fier carboximaltoză la pacienți cu Boală cronică de rinichi non-dializați .....</b>	<b>107</b>
<b>9.1. Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice) .....</b>	<b>107</b>
9.1.1. Obiective specifice .....	111
<b>9.2. Materiale și metode .....</b>	<b>112</b>
9.2.1. Tipul studiului .....	112
9.2.2. Subiecți.....	112
9.2.3. Metode.....	114
9.2.4. Analiză statistică .....	121
<b>9.3. Rezultate</b> .....	<b>122</b>
9.3.1. Funcția endotelială .....	123
9.3.2. Stresul oxidativ.....	129
9.3.3. Efecte adverse .....	130
<b>9.4. Discuții</b> .....	<b>131</b>
9.4.1. Vasodilatația mediată de flux.....	134
9.4.2. Metabolii oxidului nitric (NOx).....	136
9.4.3. Activitatea arginazei plasmatice.....	140
9.4.4. Capacitatea anti-oxidantă totală a serului.....	141
9.4.5. Producții de oxidare avansată a proteinelor.....	141

9.4.6. Reacțiile adverse .....	144
<b>9.5. Concluzii</b> .....	145
<b>10. Concluzii finale și contribuții personale</b> .....	146
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	151

## **IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE GENERALE**

Anemia are o prevalență crescută global (22,8% în 2019), în ciuda unui trend descrescător în ultimii 20 de ani [1]. Deficitul de fier este prima cauză a anemiei, inclusiv în țările dezvoltate și este frecvent observat atât în populația generală, cât și la pacienții cu boli cronice (BCR, insuficiență cardiacă, boli inflamatorii intestinale, neoplazii) [2].

Boala cronică de rinichi este o problemă de sănătate publică global, cu o prevalență de 10-15%. Deficitul de fier - absolut, funcțional - sau datorat imobilizării prin inflamație în macrofage este prezent la 20-40% dintre pacienții cu BCR, iar anemia este una dintre cele mai frecvente complicații la acești pacienți. Anemia este mai prevalentă pe măsură ce funcția rinichiului se degradează, fiind chiar mai pronunțată la cei cu proteinurie mare și la cei cu diabet zaharat. Deficitul de fier este principalul mecanism implicat, chiar și la pacienții non-dializați [3].

Impactul clinic al anemiei în BCR a fost intens studiat. Pe lângă afectarea calității vieții, alte efecte asociate cu anemia sunt progresia BCR, creșterea incidenței evenimentelor cardiovasculare și a mortalității [4]. Totuși, sunt puține datele referitoare la impactul clinic al deficitului de fier în BCR. Recent, a fost raportată asocierea dintre deficitul de fier și reducerea calității vieții prin scăderea componentelor de activitate fizică, independentă de nivelul hemoglobinei [5]. În plus, deficitul de fier a fost un predictor al mortalității de toate cauzele la pacienții cu BCR non-dializați [6].

Ghidul KDIGO pentru managementul anemiei în BCR recomandă suplimentare cu fier pentru anemia prin deficit de fier, ținând creșterea hemoglobinei și reducerea necesarului de agenți stimulatori ai eritropoiezei [7]. Dovezi recente susțin că fierul administrat intravenos pro-activ a fost benefic clinic pentru pacienții cu BCR hemodializați, avantaj care pare a se datora corectării deficitului de fier, independent de corectarea anemiei, cu alte cuvinte efectelor non-hematologice [8].

În concluzie, deficitul de fier și anemia sunt frecvente la pacienții cu BCR, prezența lor fiind asociată cu înrăutățirea prognosticului. În același timp, corecția deficitului de fier și a anemiei din BCR au impact clinic favorabil întrucât nu doar ameliorează semnificativ parametrii hematologici, dar terapia cu fier are și beneficii non-hematologice.

Opțiunile de tratament sunt fierul per os și fierul administrat intravenos.

Terapia orală cu fier ar putea fi luată în calcul la pacienții cu BCR non-dializați, limitările fiind date mai ales de toleranța redusă și de gradul de restricție al eritropoiezei. În plus, absorbția redusă a preparatelor orale de fier, face ca terapia parenterală cu fier să fie aleasă, chiar la pacienților non-dializați. În cazul acestora, fierul administrat venos a fost superior terapiei cu fier oral în atingerea și menținerea unui nivel țintă de hemoglobină și în reducerea necesarului de eritropoietină [9]. Beneficii similare au fost raportate și în subgrupuri de pacienți cu BCR din studii la pacienții cu insuficiență cardiacă acută sau cronică [10-12].

În ce privește pacienții hemodializați, administrarea parenterală a fierului este calea preferată, aceasta fiind ușor efectuată prin circuitul de hemodializă evitând astfel punționările venoase suplimentare [13]. Un număr mare de studii controlate susțin superioritatea fierului intravenos comparativ cu cel oral în creșterea nivelului de hemoglobină și reducerea dozelor de eritropoietină, atât la pacienții hemodializați, cât și la cei dializați peritoneal. Dintre preparate, fierul sucroză este cel mai bine studiat [13, 14].

Preparatele de fier intravenos sunt nanoparticule formate dintr-un nucleu de oxihidroxid de fier(III) polinuclear stabilizat de diferiți carbohidrați. După tipul carbohidratului, dimensiunea nanoparticulei și reactivitatea fierului, acești compuși au antigenicitate, stabilitate cinetică și stabilitate termodinamică diferită [15]. În funcție de tipul nanoparticulei, este posibil ca după administrarea parenterală, o mică cantitate de fier biologic activ (fier labil) să fie eliberată în circulație. Nanoparticulele cu dimensiune mică, cum este fierul sucroză, țin fierul mai puțin strâns și pot elibera cantități mai mari de fier liber, comparativ cu moleculele mai mari, cum sunt fierul carboximaltoză sau fierul izomaltozat [16].

Dovezile *in vitro* indică faptul că fierul nelegat de transferină catalizează formarea de radicali liberi de oxigen, generând stres oxidativ [17]. Prin acest mecanism fierul labil poate reduce sinteza endotelială a oxidului nitric și induce disfuncție endotelială [18]. Disfuncția endotelială joacă un rol central în aterogeneză, iar bolile cardiovasculare sunt



foarte răspândite la pacienții cu BCR, prevalență neexplicată numai de factorii de risc cardiovascular clasici [19].

Date din studii observaționale și randomizate la pacienți cu BCR, dializați sau nu, cât și în populația generală arată peroxidarea lipidelor și atenuarea vasodilatației dependente de flux în decurs de minute de la administrarea parenterală a fierului [20-22]. În contrast, alte raportări nu au asociat disfuncția endotelială cu administrarea de fier intravenos la pacienții hemodializați sau dializați peritoneal [23, 24]. Majoritatea datelor care au evaluat potențialul fierului intravenos de a genera stres oxidativ și disfuncție endotelială provin de la pacienți tratați cu fier sucroză, datele comparative între efectele a diferite preparate fiind limitate [25].

În concluzie:

- Deficitul de fier este frecvent la pacienții cu BCR, are mai întâi consecințe non-hematologice, din păcate puțin studiate la pacienți cu BCR, și abia apoi consecințe hematologice: anemie feriprivă, prin deficit de fier, absolut sau funcțional, respectiv prin blocarea fierului în macrofage și inflamație;
- Tratamentul cu fier administrat parenteral a fost intens studiat și corectează eficient anemia feriprivă din BCR;
- Deoarece preparatele de fier pentru utilizare parenterală pot elibera în circulație fier catalitic activ, accentuarea stresului oxidativ poate produce disfuncție endotelială, ceea ce poate avea consecințe clinice. Puținele studii - mai ales în condiții experimentale - care au investigat acest aspect au avut rezultate contradictorii.

Pornind de la aceste premise, am structurat cercetarea în patru studii:

1. Un studiu pilot, observațional retrospectiv, cu obiectivul de a descrie morbiditatea (frecvența, durata și cauzele spitalizărilor) asociată tratamentului de lungă durată cu fier sucroză la pacienți cu BCR hemodializați, întrucât acesta este cel mai bine documentat dintre preparatele de fier parenteral, iar pacienții hemodializați sunt expuși frecvent la această formulă de fier intravenos;

2. Un studiu prospectiv încrucișat, cu obiectivul de a investiga modificările stresului oxidativ în timpul ședințelor de hemodializă, la pacienți la care a fost sau nu administrat fier intravenos;
3. Un studiu prospectiv încrucișat, cu obiectivul de a investiga modificările acute ale funcției endoteliale comparând fierul sucroză cu fierul carboximaltoză administrate la pacienți cu BCR non-dializați;
4. Un studiu prospectiv încrucișat, cu obiectivul de a evalua efectul fierului carboximaltoză asupra endoteliului vascular și a unor parametri ai stresului oxidativ.

## **Studiul 1 - Efectul terapiei de lungă durată cu fier intravenos asupra morbidității la pacienții cu BCR hemodializați**

### **1. Obiective**

Descrierea morbidității (număr de spitalizări, număr total de zile de spitalizare, durata fiecărei spitalizări, principalele diagnostice de internare) la pacienți cu BCR hemodializați tratați cu fier sucroză comparativ cu pacienți cu BCR hemodializați netratați cu fier.

### **2. Materiale și metode**

Studiu clinic observațional retrospectiv condus în Spitalul Clinic de Nefrologie „Dr. Carol Davila”, București.

Au fost investigați toți pacienții cu vârstă peste 18 ani cu BCR aflați în program de hemodializă și internați în Spitalul Clinic de Nefrologie “Dr. Carol Davila” pe o perioadă de un an.

Au fost **incluși** pacienții cu o vechime a terapiei de substituție a funcțiilor renale prin hemodializă de cel puțin 12 luni.

**Criteriile de excludere** au fost: boala cronică de rinichi asociată diabetului (întrucât au fost numai 3 cazuri decelate), sarcina și absența datelor complete referitoare la obiectivele urmărite în studiu.

### **Parametrii investigați**

Pentru colectarea parametrilor demografici, clinici și paraclinici, au fost utilizate foile de observație din arhiva electronică a spitalului, documentele medicale de la internările în alte spitale și scrisorile medicale de la centrele de dializă.

### **Parametrii principali ai studiului**

Indicatori care reflectă morbiditatea: numărul de internări, numărul total de zile de spitalizare, durata spitalizării per internare, principalele diagnostice de internare.

Tratamentul cu fier intravenos a avut următoarele caracteristici:

- preparatul: fier sucroză (Venofer<sup>®</sup> 20 mg fier/mL, 1 fiolă = 100mg), administrat parenteral, diluat cu 100ml soluție de clorură de sodiu 0.9%, administrat în ultima oră a ședinței de hemodializă pe calea venoasă a circuitului extracorporeal;

- doză: 100mg fier sucroză administrat la 1-4 săptămâni, pentru a atinge și menține ținta tratamentului anemiei în BCR la pacientul hemodializat conform Societății Române de Nefrologie [26];

- durată: cel puțin 12 luni.

### **Analiză statistică**

Datele au fost analizate cu ajutorul programelor IBM® SPSS® ver. 23 și Microsoft Office Professional Excel 2003+Analyse-it® (aceleași programe au fost utilizate pentru analiza statistică a datelor celor 4 studii). Normalitatea variabilelor continue a fost testată prin testul Shapiro-Wilk.

Datele cu distribuție simetrică au fost exprimate ca medii  $\pm$ deviație standard (DS), iar cele cu distribuție non-simetrică au fost exprimate ca mediane cu interval inter-cuartile. Variabilele categorice au fost descrise ca procente. Rata incidenței spitalizărilor a fost calculată ca număr total de spitalizări/(populație investigată x interval de timp). Diferențele dintre grupuri au fost analizate cu testul Pearson  $\chi^2$  și Kruskal-Wallis H.

Semnificația statistică a fost considerată pentru o valoare  $p < 0.05$ .

### **3. Rezultate**

Au fost înrolați 220 pacienți cu vârsta medie de  $53 \pm 13$  ani, 56% de sex masculin. Mediana vechimii în hemodializă a fost 5 (1-26) ani.

Două treimi dintre pacienți a fost tratați cu fier. La aproape jumătate dintre ei au fost utilizate doze mici de fier de 100mg/lună, în timp ce numai 20% au primit doze mari (400mg/lună) (**Tabel 1.I**).

#### **Numărul de internări**

A fost observat un număr total de 119 spitalizări, cu o rată a incidenței de 54/100 pacienți-ani. În grupul tratat cu fier au fost înregistrate 84 de spitalizări (56/100 pacienți-ani), comparativ cu 35 în grupul fără tratament cu fier (50/100 pacienți-ani),  $p=0,1$ .

Nu au fost diferențe ale numărului de spitalizări (fără spitalizări, 1,2 sau 3-5 spitalizări) între cele 2 grupuri.

**Tabel 1.I. Caracteristicile pacienților în funcție de prezența tratamentului cu fier**

Caracteristici	Tratament cu fier n=150	Fără tratament cu fier n=70	p
Vârstă (ani)	53 (27-86)	53 (22-81)	0.8
Sex masculin, n (%)	86 (57)	38 (54)	0.7
Afectarea primară a rinichiului (%)			
• Nefropatie glomerulară	53	59	0.6
• Nefropatie tubulo-interstițială	22	26	0.3
• Boală polichistică a rinichiului	12	10	0.8
• Nefropatie vasculară	11	4	0.1
• Necunoscută	3	1	0.5
Vechimea în HD (ani)	4 (1-24)	6 (1-26)	0.2
Doza lunară de fier IV (%)			
100 mg	46%		
200 mg	36%		
400 mg	18%		
Datele sunt exprimate ca mediane (interval inter-cuartile) sau procente. HD, hemodializă; IV, intravenos.			

### Zile de spitalizare

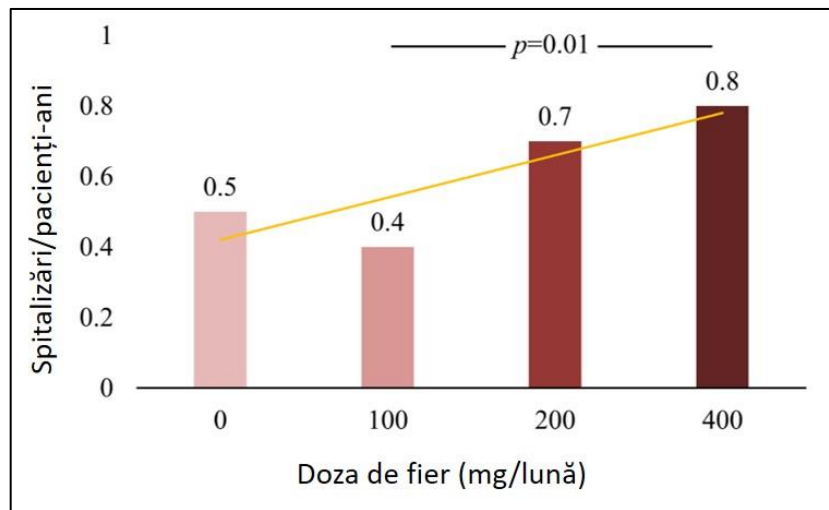
Durata per spitalizare și numărul total de zile de spitalizare a fost similar, indiferent de prezența tratamentului cu fier

### Cauza spitalizării

Rata de spitalizare pentru infecții și boli cardiovasculare a fost similară la ambele grupuri (12/100 pacienți-ani vs. 5,7/100 pacienți-ani,  $p=0,3$ , respectiv 11,3/100 pacienți-ani vs. 4,3/100 pacienți-ani,  $p=0,2$ ).

### Relația dintre doza de fier intravenos administrată și necesarul de spitalizare

Rata de spitalizare au crescut direct proporțional cu doza de fier administrată (**Figura 1.1**).



**Figura 1.1. Rata de spitalizare în funcție de doza de fier**

## **Studiul 2 - Efectul acut al fierului sucroză asupra stresului oxidativ la pacienți cu BCR hemodializați**

### **1. Obiective**

1. Evaluarea efectului acut al administrării de fier sucroză asupra sistemului antioxidant, prin compararea modificărilor parametrilor antioxidanți eritrocitari intra-dialitic, la pacienți cu BCR hemodializați cronic.
2. Evaluarea efectului acut al administrării de fier sucroză asupra sistemului antioxidant, prin compararea modificărilor parametrilor antioxidanți plasmatici intra-dialitic, la pacienți cu BCR hemodializați cronic.
3. Evaluarea efectului acut al administrării de fier sucroză asupra stresului oxidativ, prin compararea modificărilor intra-dialitice a indicatorilor producției crescute de radicali liberi, la pacienți cu BCR hemodializați cronic.

### **2. Materiale și metode**

Studiu prospectiv, încrucișat, efectuat în Departamentul de Nefrologie a Spitalului Clinic de Nefrologie “Dr. Carol Davila”.

**Criteriile de includere au fost:** vârsta >18 ani, vechimea în dializă de peste 6 luni, o doză stabilă de eritropoietină pentru cel puțin o lună înainte de începerea studiului, valoarea hemoglobinei >9g/dl.

**Criteriile de excludere au fost:** istoric de reacții alergice la fier, tratament cu fier sau transfuzii de sânge în luna anterioară înrolării, supraîncărcare cu fier (ferritina serică >500ng/dl și/sau saturația transferinei >50%), alte cauze de anemie (hemoglobinopatii, deficit de vitamina B12 și/sau deficit de acid folic), infecții active, diabet zaharat sau boli active hepatice, malnutriție severă, tratamente imunosupresoare, neoplazii, sarcina sau alăptatul, fumatul activ, tratament pro- sau antioxidant în curs.

### **Protocolul studiului**

#### *Ședința de hemodializă*

Probele de sânge au fost recoltate în timpul a 2 ședințe de hemodializă din mijlocul săptămânii (miercurea sau joia), la 7 zile distanță una de cealaltă:

- prima ședință fără administrare de fier (abreviată HD-Fe(-))

- a doua ședință cu administrare intravenoasă de fier sucroză (Venofer® Vifor Pharma), în doză de 100mg, diluat cu 100ml de soluție NaCl 0,9%, injectat pe linia venoasă a circuitului extracorporal, în primele 20 de minute ale ședinței de hemodializă (abreviată (HD-Fe(+))).

Toate probele au fost recoltate după post alimentar de minim 12 ore, în 3 momente ale ședințelor de hemodializă, după cum urmează:

- la începutul ședinței (la minutul 0);
- la 45 minute (adică la 25 minute după finalizarea infuziei de fier, corespunzător momentului de generare maximă a speciilor reactive induse de procedura de hemodializă [27] și fazei alfa de eliminare a dozei de fier sucroză [28]);
- la sfârșitul ședinței (la minutul 270).

### **Parametrii investigați**

Pentru colectarea parametrilor demografici, clinici și paraclinici, au fost utilizate foile de observație din arhiva electronică a spitalului și protocoalele de la ședințele de hemodializă.

### **Parametrii principali au fost:**

- *parametrii antioxidanți eritrocitari:* activitatea superoxid dismutazei (SOD), activitatea catalazei (CAT), concentrația tiolului eritrocitar non proteic (ESHnp), concentrația tiolului eritrocitar total (ESHt), capacitatea totală antioxidantă a eritrocitului (TEAC) evaluată prin metoda ABTS modificată pentru ser [29-33].
- *parametri antioxidanți plasmatici:* concentrația tiolului plasmatic total (Pt-SH), după metoda lui Ellman's [33], capacitatea antioxidantă totală a serului (TSAC) prin metoda ABTS [32], capacitatea antioxidantă reziduală a serului (RAC) [34].
- *parametri ai producției crescute de radicali liberi:* specii reactive plasmatică cu acidul tiobarbituric (TBARS [35] și LDL-oxidat (ox-LDL), ca parametri pentru peroxidarea lipidică, compușii dicarbonil reactivi (CDC, utilizând reactivul Girard-T [36]) și produșii Amadori (Pamad, fructozamină, măsurați după metoda lui Furdh [37]) determinați prin spectrofotometrie, ca indicatori ai stresului carbonil.

### **Analiză statistică**

Parametrii de evaluare a statusului fierului și cei de stres oxidativ au fost exprimați raportat la proteinele plasmatiche totale, hemoglobină, respectiv la colesterol în scopul ajustării pentru hemoconcentrarea intradialitică.

Toate datele au fost avut distribuție simetrică. Rezultatele au fost exprimate ca medii±DS și au fost comparate folosind testul t-Student, pe perechi sau nu. Pentru evaluare relațiilor dintre variabile au fost utilizate corelația Pearson și modelul de regresie standard.

Valoarea  $p < 0.05$  a fost considerată semnificativă statistic.

### **3. Rezultate**

Au fost incluși 20 de pacienți cu BCR (13 bărbați, vârsta medie  $56 \pm 13$  ani) în program de HD cronică de cel puțin 6 luni (media duratei în hemodializă  $71 \pm 7$  luni), stabili clinic.

#### **Parametrii antioxidanți eritrocitari**

Nu au fost diferențe semnificative între valorile bazale ale parametrilor antioxidanți eritrocitari și nici între cei ai metabolismului fierului, între cele două ședințe de hemodializă.

Capacitatea totală antioxidantă eritrocitară a scăzut în timpul ambelor ședințe de hemodializă, dar notabil, reducerea observată la 45 de minute a fost mai marcată la cei la care a fost administrat intravenos fier sucroză (**Tabel 2.I**).

Nivelul de ESHt a crescut la 45 minute și la finalul ședinței HD-Fe(+), în comparație cu valoarea bazală (115 și 108 versus 80  $\mu\text{mol/g Hb}$ ,  $p = 0.019$ ), dar nu a variat semnificativ în timpul ședinței control (**Tabel 2.I**).

Nivelul de ESHnp a scăzut numai la sfârșitul ședinței HD-Fe(+), (233 versus 262  $\text{nmol/g Hb}$ ,  $p = 0.038$ ) (**Tabel 2.I**).

Parametrii enzimatici antioxidanți eritrocitari (SOD, CAT) nu s-au modificat în timpul ședinței de hemodializă, indiferent de administrarea sau nu a fierului (**Tabel 2.I**).



**Tabel 2.I. Statusul antioxidant eritrocitar și cel al metabolismului fierului în timpul ședințelor de hemodializă**

	HD-Fe(-)*			HD-Fe(+)*		
	0min.	45min.	270min.	0min.	45min.	270min.
Hemoglobina (g/dl)	10.3±0.98	10.61±0.97	<sup>††</sup> 12.18±1.6	10.29±0.95	10.42±0.9	<sup>††</sup> 11.85±1.4
Hematocrit (%)	31.3±2.7	32.25±2.7	<sup>††</sup> 36.7±4.7	31.7±2.8	31.9±2.5	<sup>††</sup> 35.4±4.4
TSAT (%)	38.5±8.2	38.4±8.8	40.68±9	34.86±9.5	<sup>†§</sup> 74.4±10.7	<sup>†§</sup> 75.7±10.7
sFerr <200ng/ml (%)	40	-	-	37	-	-
sFe/proteine (μg/g)	13.3±3.6	12.8±3.5	13.8±4	12.1±3.2	<sup>§†</sup> 51.4±8.6	<sup>§††</sup> 36.6±8
sFerr/proteine (ng/g)	34±17	-	40±20	37±19	-	42±21
TSAT/proteine (%/g)	5.6±1.2	5.3±1.2	<sup>†</sup> 4.9±0.9	5.3±1.5	<sup>§†</sup> 10.8±1.4	<sup>§†</sup> 9.8±1.7
ESHT (μmol/g Hb)	97.5±29	96±46.7	100.5±36	80±46	<sup>†</sup> 115±54	<sup>†</sup> 108±46
ESHnp (nmol/g Hb)	241±45	237±50	239±64	262±52	260±57	<sup>†</sup> 233±50
SOD (U/g Hb)	934±189	914±310	820±297	864±286	886±311	903±365
CAT (k/g Hb)	354±69	363±57	344±76	346±69	368±66	356±61
TEAC (μmol/g Hb)	1.64±0.1	1.58±0.17	<sup>††</sup> 1.22±0.2	1.63±0.5	<sup>§</sup> 1.45±0.3	<sup>††</sup> 1.15±0.2

\*Media ± DS; p<0.05 <sup>†</sup> vs. 0min.; <sup>‡</sup> vs. 45min.; <sup>§</sup> vs. HD-Fe(-) la același moment. CAT- activitatea catalazei; ESHnp – tiol nelegat; ESHT – tiol total; Hb - hemoglobina; HD-Fe(-) – ședință de hemodializă fără administrare de fier; HD-Fe(+)- ședință de hemodializă cu administrare de fier; SOD – activitatea superoxid dismutazei; sFe - sideremie; sFerr – feritină serică; TEAC- capacitatea antioxidantă totală eritrocitară; TSAT- saturația transferinei

### Parametrii antioxidanți plasmatici

Concentrația totală a tiolului plasmatic a crescut semnificativ după 40 de minute, la ambele ședințe HD investigate. Nu au fost diferențe notabile ale concentrației totale a tiolului plasmatic în prezența tratamentului cu fier intravenos comparativ cu absența acestuia.

Capacitatea antioxidantă totală a serului (TSAC) nu s-a modificat pe durata tratamentului prin HD, indiferent de administrarea fierului (**Tabel 2.II**).

**Tabel 2.II. Statusul antioxidant plasmatic și cel al metabolismului fierului în timpul ședințelor HD**

	HD-Fe(-)*			HD-Fe(+)*		
	0min	40min	270min	0min	40min	270min
Pt-SH/proteine (mcmol/g)	11.9±1.4	11.8±1.4	<sup>††</sup> 14.2±1.3	11.3±1.8	11.6±1.3	<sup>††</sup> 14.1±1.3
TSAC/proteine (mmol/g)	2.1±0.3	2.0±0.2	2.1±0.2	2.2±0.2	2.2±0.3	2.1±0.2
RAC/proteine (mmol/g)	1.0±0.3	1.1±0.3	<sup>††</sup> 1.2±0.2	1.1±0.3	1.2±0.3	1.3±0.3
Acid uric (mg/dl)	6,39	4,72 <sup>†</sup>	2,07 <sup>‡</sup>	6,44	4,69 <sup>†</sup>	1,75 <sup>‡</sup>
sFe/proteine (μg/g)	13±3.6	12.8±3.5	13.8±4	12.1±3.2	<sup>§†</sup> 51.4±8.6	<sup>§††</sup> 36.6±8
sFerr/proteine (ng/g)	34±17	-	40±20	37±19	-	42±21
TSAT/proteine (%/g)	5.6±1.2	5.3±1.2	<sup>†</sup> 4.9±0.9	5.3±1.5	<sup>§†</sup> 10.8±1.4	<sup>§†</sup> 9.8±1.7

\* Media ± DS; p < 0.05: <sup>†</sup> vs. 0min; <sup>‡</sup> vs. 40min; <sup>§</sup> vs. HD-Fe(-) la același moment.  
 HD-Fe(-) – ședință de hemodializă fără administrare de fier; HD-Fe(+)- ședință de hemodializă cu administrare de fier; Pt-SH- concentrația tiolilor plasmatici; RAC- capacitatea antioxidantă reziduală a serului; sFe - sideremie; sFerr – feritină serică; TSAC- capacitatea antioxidantă totală plasmatică; TSAT- saturația transferinei

## Parametrii producției crescute de radicali liberi

Concentrația plasmatică de TBARS a crescut la 40 minute în timpul ambelor ședințe HD. A fost notată însă o creștere susținută numai în cursul ședinței HD-Fe(+), la sfârșitul căreia au fost atinse valori mai mari comparativ cu ședința HD-Fe(-) (Tabelul 2.III , Figura 2.1).

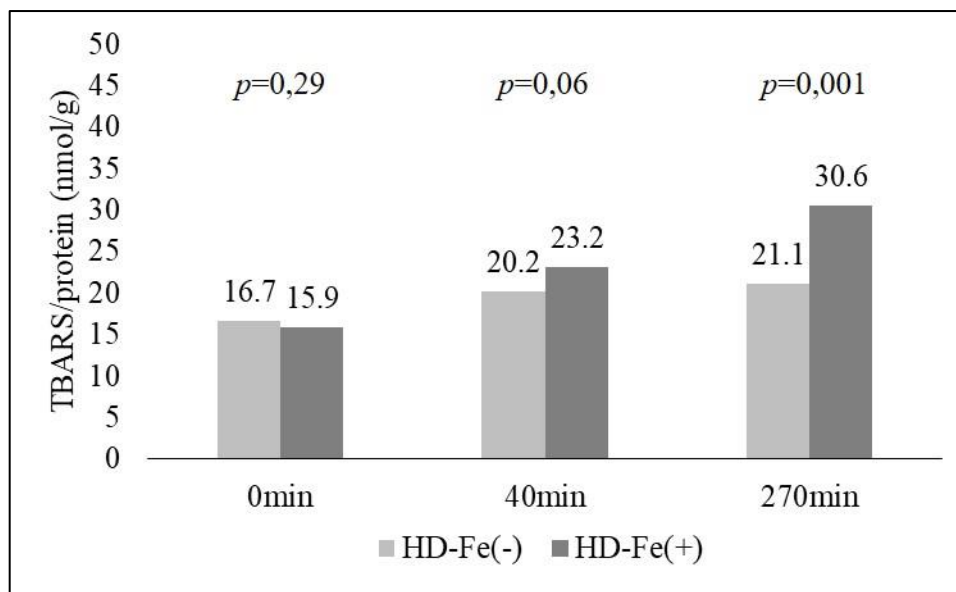


Figura 2.1. Concentrația speciilor reactive cu acidul tiobarbituric (TBARS) în timpul ședințelor de hemodializă studiate. HD-Fe(-) - ședință de hemodializă fără administrare de fier; HD-Fe(+)- ședință hemodializă cu administrare de fier

Numai la ședința cu fier intravenos a fost notată creșterea marcată a ox-LDL, la 40 de minute (Tabelul 2.III).

Tabel 2.III . Dinamica radicalilor oxidanți în timpul ședințelor de hemodializă

	HD-Fe(-)*			HD-Fe(+)*		
	0min	40min	270min	0min	40min	270min
TBARS/proteine (nmol/g)	16.7±4.4	†20.2±5.9	†21.1±5.2	15.9±4.8	†23.2±5.4	†‡30.5±6.7
ox-LDL/col(U/mg)	0.93 ± 0.12	0.91 ± 0.11	†‡0.78 ± 0.11	0.90 ± 0.12	§†1.08 ± 0.21	§†0.91 ± 0.18
TSAT/col(%/mg)	0.23 ± 0.10	0.23 ± 0.10	0.2 ± 0.07	0.20 ± 0.08	§†0.42 ± 0.09	§†‡0.36 ± 0.08
LDL-c/col (mg/mg)	0.61 ± 0.05	0.63 ± 0.07	0.6 ± 0.06	0.61 ± 0.07	0.64 ± 0.07	0.61 ± 0.07

\* Media ± DS; p < 0.05: † vs. 0min; ‡ vs. 40min; § vs. HD-Fe(-) la același moment.

col-colesterol; HD-Fe(-) – ședință de hemodializă fără administrare de fier; HD-Fe(+)- ședință de hemodializă cu administrare de fier; ox-LDL - LDL oxidat; Pamad- produșii Amadori; prot- proteine; TBARS- specii reactive cu acidul tiobarbituric; TSAT- saturația transferinei

Nivelul de ox-LDL a fost corelat pozitiv cu saturația transferinei, la 40 de minute de la începutul ședinței de HD la care a fost administrat fier intravenos (adică la 20 de minute după perfuzia cu fier),  $r = 0,66$ ,  $p = 0,002$ .

Compușii reactivi dicarbonil plasmatici au scăzut semnificativ intra-dialitic, indiferent de administrarea fierului (7.6vs 13.4vs 14,4mcmol/mg la 270vs 40vs 0min la ședința HD-control, respectiv 9.7vs 15.2vs 16.1mcmol/mg la 270 vs. 40 vs. 0min la ședința HD cu fier) (**Tabel 2.IV.**).

Prođușii Amadori au avut comportament similar (146 vs. 203 vs. 221mmol/mg la 270 vs. 40 vs. 0 min la ședința HD-control, respectiv 156 vs. 214 vs. 238 la 270 vs. 40 vs. 0 min la ședința HD cu fier) (**Tabel 2.IV.**).

**Tabel 2.IV. Statusul parametrilor stresului carbonil în timpul ședințelor de hemodializă studiate**

	HD-Fe(-)*			HD-Fe(+)*		
	0min	40min	270min	0min	40min	270min
RDC/col (mcmol/mg)	14.4 ± 4.4	13.4 ± 4.5	<sup>†‡</sup> 7.6 ± 3.0	16.1 ± 5.0	15.2 ± 5.4	<sup>†‡</sup> 9.7 ± 5.0
PAmad/col (mmol/mg)	221 ± 46	203 ± 38	<sup>†‡</sup> 146 ± 34	238 ± 47.3	214 ± 57.5	<sup>†‡</sup> 156 ± 45.4
TSAT/col(%/mg)	0.23 ± 0.10	0.23 ± 0.10	0.2 ± 0.07	0.20 ± 0.08	<sup>§†</sup> 0.42 ± 0.09	<sup>§†‡</sup> 0.36 ± 0.08
LDL-c/col (mg/mg)	0.61 ± 0.05	0.63 ± 0.07	0.6 ± 0.06	0.61 ± 0.07	0.64 ± 0.07	0.61 ± 0.07

\* Media ± DS; p < 0.05: † vs. 0min; ‡ vs. 40min; § vs. HD-Fe(-) la același moment.  
col-colesterol; HD-Fe(-) – ședință de hemodializă fără administrare de fier; HD-Fe(+)  
– ședință de hemodializă cu administrare de fier; PAmad- produșii Amadori; RDC- compuși reactivi dicarbonil; TSAT- saturația transferinei

## **Studiul 3 - Efectul acut a două preparate de fier intravenos asupra funcției endoteliale la pacienții cu BCR nedializați**

### **1 Obiective specifice**

Investigarea modificărilor acute ale funcției endoteliale după administrarea a două preparate de fier (fier sucroză și fier carboximaltoză) în doză unică, la pacienți cu BCR non-dializați.

### **2. Materiale și metode**

Studiu clinic prospectiv încrucișat, condus în Spitalul Clinic de Nefrologie „Dr. Carol Davila”, București. Au fost monitorizați pacienții cu vârstă >18 ani și BCR stadiul 3-5, non-dializați, care necesitau administrare de fier intravenos, conform indicației medicului curant, într-o perioadă de 6 luni.

După aplicarea criteriilor de excludere, au fost **incluși** în studiu 31 de pacienți cu deficit de fier, naivi la tratamentul cu fier sau eritropoietină.

**Criteriile de excludere** au fost: istoric de reacții alergice la fier, supraîncărcare cu fier (feritina serică >500 ng/dl și/sau saturația transferinei > 50%), alte cauze de anemie (hemoglobinopatii, deficit de vitamina B12 și/sau deficit de acid folic), infecții active, tratamente imunosupresoare, neoplazii, sarcina sau alăptatul.

### **Parametrii investigați**

Pentru colectarea parametrilor demografici, clinici și paraclinici, au fost utilizate foile de observație din arhiva electronică a spitalului.

### **Parametrul principal**

A fost variația dilatației mediată de flux a arterei brahiale, ca indicator clinic al disfuncției endoteliale (vezi mai jos **Intervenția terapeutică**).

### **Intervenția terapeutică**

Intervenția terapeutică a constat în administrarea a 3 perfuzii, fiecare în câte 30 de minute, la 72 de ore distanță, în următoarea ordine (**Figura 3.1**):

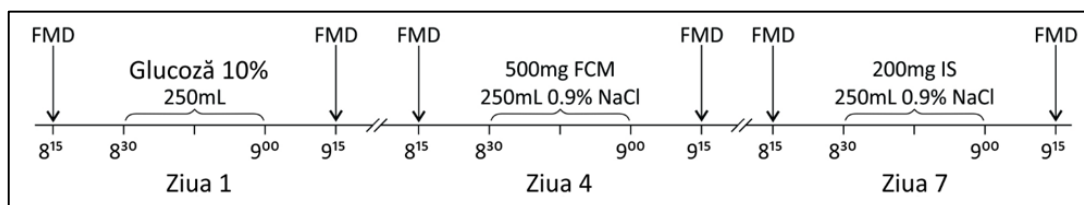
- 250 ml glucoză 10%, soluția martor;
- 500 mg fier carboximaltoză (Ferinject; Vifor Pharma, Opfikon, Switzerland) în 250 ml NaCl 0,9% ;

- 200 mg fier sucroză (Venofer; Vifor Pharma) în 250 ml NaCl 0,9%.

Am ales glucoza 10% ca soluție martor datorită osmolarității apropiate cu cea a fierului sucroză (505 vs 564mOsm/l), pentru a uniformiza efectul hiperosmolarității asupra endoteliului.

### Evaluarea funcției endoteliale

Funcția endotelială a fost evaluată clinic prin determinarea dilatației mediate de flux (FMD). Măsurătorile au fost efectuate cu 15 minute înainte și după fiecare perfuzie (**Figura 3.1**).



**Figura 3.1. Schema studiului. Perfuziile au fost administrate în 30 de minute, la 72 de ore distanță, în ordinea: soluția comparator (glucoză 10%), urmată de FCM (fier carboximaltoză) și de IS (fier sucroză). Dilatația mediată de flux (FMD) a fost măsurată cu 15 minute înainte și la 15 minute după fiecare perfuzie**

FMD a fost calculată ca modificarea procentuală a diametrului arterei brahiale la 60 de secunde după dezumflarea manșetei tensiometrului, folosind formula:  $FMD(\%) = (\text{Diametrul maxim} - \text{Diametrul bazal}) / \text{Diametrul bazal}$ .

### Analiză statistică

Normalitatea distribuției variabilelor a fost evaluată cu testul Shapiro-Wilk. În funcție de distribuție (simetrică sau asimetrică), datele au fost exprimate ca medii/mediane, cu intervalul de încredere 95%. Variabilele categorice au fost descrise ca procente, iar diferențele dintre grupuri au fost analizate cu testul Pearson  $\chi^2$ .

Diferențele post-/pre-perfuzie ( $\Delta$ ) pentru fiecare dintre parametri au fost comparate cu testul Wilcoxon pentru eșantioane perechi.

Semnificația statistică a fost considerată pentru o valoare  $p < 0.05$ .

### 3. Rezultate

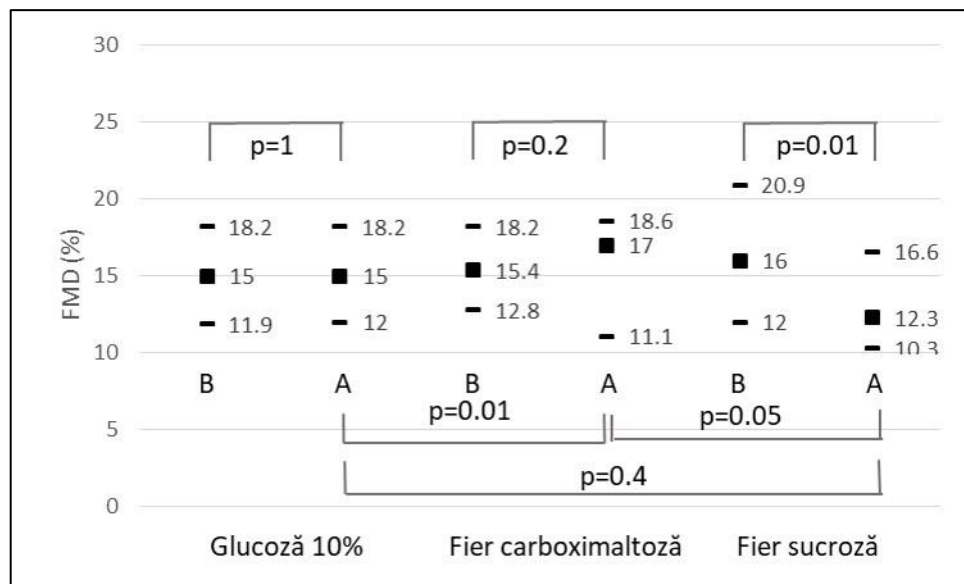
Vârsta mediană a pacienților a fost 60 (54-66) ani, 80% au fost femei, 23% au avut DZ, 31% obezitate, 94% HTA, iar 45% boală cardio-vasculară.

Mediana RFGe a fost 24 (19-34) ml/min, iar 80% dintre pacienți au avut BCR categoriile G3-G4. Cauzele cele mai frecvente ale BCR au fost bolile glomerulare, urmate de nefropatiile vasculare.

Anemia a fost predominant ușoară (numai 1 din 10 pacienți au avut hemoglobină mai mică de 10 g/dl). Inflamația cu PCR peste 5 mg/dl a fost observat la numai 19% dintre pacienți. Majoritatea au avut deficit de fier, absolut (41%) sau funcțional (35%).

### Funcția endotelială după administrarea intravenoasă a unei doze unice de fier

FMD a scăzut numai după administrarea de fier sucroză de la 16 (12-20,9) la 12,3 (10,3-16,6)% (**Figura 3.2**).



**Figura 3.2** Vasodilatația mediată de flux (FMD; %) înainte (B) și după (A) perfuziile cu glucoză 10%, fier carboximaltoză și fier sucroză

Mai mult, FMD a fost redusă semnificativ numai după administrarea de fier sucroză, comparativ cu fierul carboximaltoză sau glucoza 10% (-2,3 (0,4 - -5,7) versus 1 (-2 - -2,5)%).

## **Studiul 4 - Disfuncția endotelială și stresul oxidativ după o doză unică intra-venos de fier carboximaltoză la pacienți cu Boală cronică de rinichi non-dializați**

### **1. Obiective**

Evaluarea, la subiecți cu BCR non-dializați, cu deficit de fier și anemie, a efectului unei doze unice de 1000mg de fier carboximaltoză, comparativ cu o soluție martor (NaCl 0.9%) asupra disfuncției endoteliale și a stresului oxidativ.

### **2. Materiale și metode**

Studiu clinic unicentric, prospectiv încrucișat, condus în Spitalul Clinic de Nefrologie „Dr. Carol Davila”, București. După aplicarea criteriilor de selecție, au fost incluși 41 de subiecți din Clinica de Nefrologie a Spitalului Clinic de Nefrologie „Dr. Carol Davila”.

**Criterii de excludere:** contraindicații ale tratamentului cu fier intravenos: alergie cunoscută la fier, infecții active, hemocromatoză, semne de încărcare cu fier (feritină serică >500 ng/mL și/sau saturația transferinei >50%); tratamentul cu preparate de fier și agenți stimulatori ai eritropoiezei cu 6 luni înainte de recrutare; status de fumător activ; tratament cu suplimente alimentare antioxidante în ultimele 3 luni; sângerări manifeste clinic; anemie de altă cauză (hemoglobinopatii, deficit de vitamina B12 și/sau acid folic sugerate de aspectul megaloblastic la frotiul de sânge periferic, mielom multiplu și alte paraproteinemii); anemie severă (Hb<7 g/dl); FMD bazal <7% (existența aterosclerozei care limitează reactivitatea arterială); neoplazii (în ultimele 6 luni); hepatopatii active (transaminaze serice crescute  $\geq 3$  x valoarea normală) sau insuficiență hepatică  $\geq$  clasa Child B; boli autoimune sau inflamație semnificativă (definită prin proteina C-reactivă >5mg/L); sarcină sau alăptare; participarea în alt studiu clinic în ultimele 3 luni.

### **Parametrii principali de evaluare:**

Indicatori ai disfuncției endoteliale:

- Clinic - variația dilatației mediată de flux (FMD) a arterei brahiale.
- Paraclinic - variația nivelului circulant al: nitratului/nitritului seric și activitatea L-arginazei.

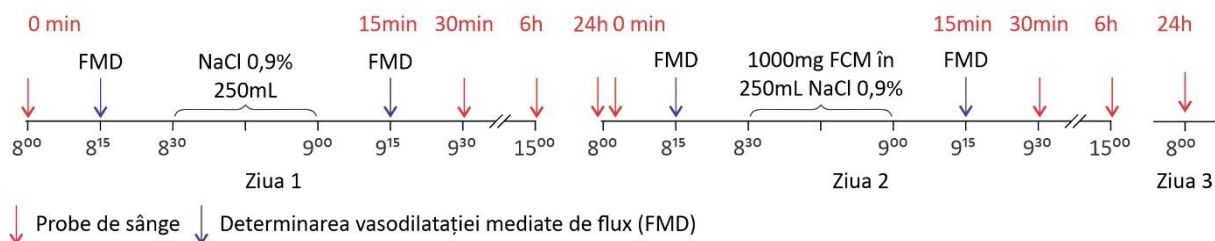
Indicatori ai stresului oxidativ - variația nivelului circulant al activității anti-oxidantă echivalente a serului (TEAC) și al produșilor de oxidare avansată a proteinelor.

## Protocol de lucru

Procedurile studiului au fost efectuate după o perioadă de post alimentar de aproximativ 12 ore.

## Intervenția

- Control: 250 mL NaCl 0,9%;
  - Intervenție: 1000 mg fier carboximaltoză în 250 mL NaCl 0,9%;
- administrare la 24 ore interval, în această ordine, în perfuzie IV cu o durată de 30 minute. La momentele studiului (înainte și după intervenție) au fost efectuate procedurile descrise în **Figura 4.1**.



**Figura 4.1. Protocolul și momentele studiului. FCM - fier carboximaltoză; FMD - vasodilatație mediată de flux;; NaCl - clorură de sodiu**

## Analiză statistică

Au fost comparate valorile parametrilor de evaluare – FMD; NO<sub>x</sub>, activitatea arginazei, TEAC, AOPP – înainte – după intervenție, respectiv control, ca și variația înainte - după intervenție, respectiv control, atât în valoare absolută ( $\Delta$  = valoarea post-perfuzie – valoarea pre-perfuzie), cât și ca procent (valoarea post-perfuzie – valoarea pre-perfuzie %).

Parametrii cu distribuție asimetrică, au fost exprimați prin mediană și intervalul de încredere 95%. Pentru compararea medianelor între măsurătorile repetate ale unei variabile la același subiect, a fost utilizat testul t-împerecheat non parametric, respectiv testul Wilcoxon signed rank sum. Pentru compararea medianelor între două grupuri a fost utilizat testul non parametric Kruskal-Wallis test.

Parametrii calitativi au fost descriși prin procente, iar comparația între loturi a fost făcută cu testul Chi<sup>2</sup> sau Fisher's Exact Test (pentru un număr mic de subiecți). Diferențele au fost exprimate ca OR și intervale de încredere.

Relația dintre două variabile a fost analizată prin corelație bivariată, cu testul Spearman.



Pentru analiza relațiilor dintre  $\text{NO}_x$  și parametrii investigați pacienții au fost împărțiți în subloturi definite în funcție de mediana întregului lot.

Pentru analiza relațiilor dintre AOPP și parametrii investigați pacienții au fost împărțiți în subloturi definite în funcție de mediana întregului lot. Parametri la care au fost identificate deosebiri semnificative au fost introduși în modele de regresie logistică binomială.

Diferențele apărute în urma comparațiilor au fost considerate semnificative statistic la un prag acceptat de 95%, adică  $p=0,05$ .

### **3. Rezultate**

Vârsta mediană a pacienților a fost 68 (58-70) ani, 61% au fost femei, 90% erau hipertensivi (peste jumătate cu afectarea organelor țintă), 41% au avut DZ (majoritatea cu complicații), iar 42% aveau boli cardio-vasculare.

Mediana RFGe a fost 24 (16-34) ml/min, 39% dintre pacienți au avut BCR categoria G5 non-dializă. Albuminuria mediană era moderată: 309 (177-553) mg/g creatinină. Inflamația era puțin prevalentă: PCR 3 (2-6) mg/l.

Anemia era ușoară: numai 15% dintre pacienți aveau hemoglobina mai mică de 10g/dl. Cea mai mare parte a pacienților (68%) avea deficit absolut de fier.

#### **Funcția endotelială**

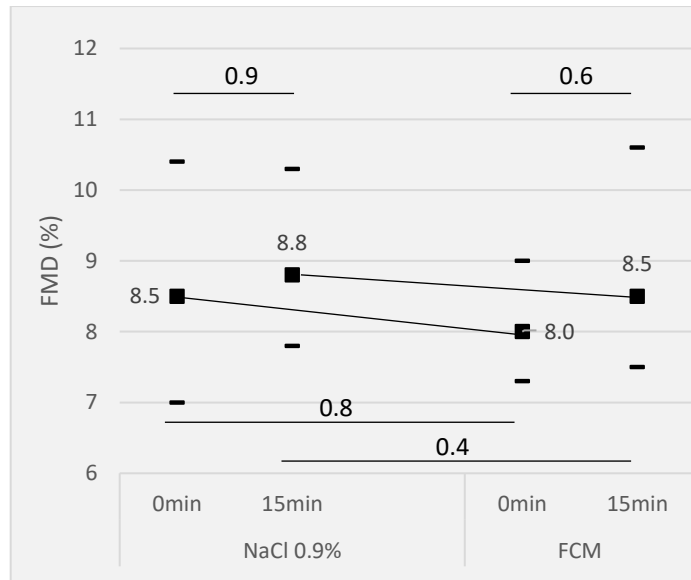
##### **Vasodilatația mediată de flux**

Nu au fost diferențe între FMD (%) nici înainte, nici la 15 minute după administrarea NaCl 0,9% și fier carboximaltoză (**Figura 4.2**).

##### **Nitriții/nitrații plasmatici ( $\text{NO}_x$ )**

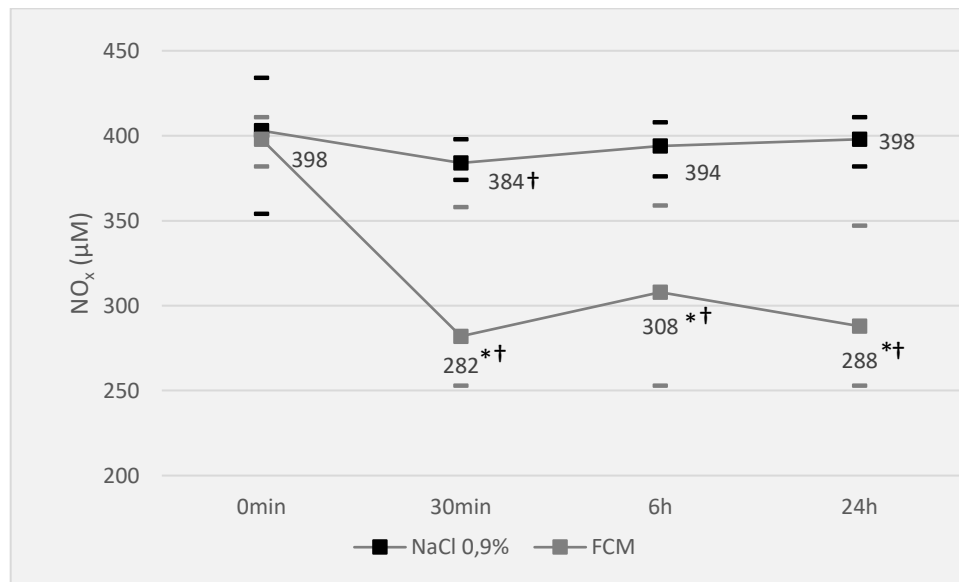
Nivelul plasmatic al nitraților/nitriților ( $\text{NO}_x$ ) nu a diferit înainte de cele două perfuzii, însă a scăzut la 30 minute după ambele perfuzii, dar scăderea a fost mai mare după fier carboximaltoză (**Figura 4.3**).

Nivelul  $\text{NO}_x$  a fost mai mic după administrarea de fier carboximaltoză față de NaCl 0,9% la toate momentele studiului. În plus, în cazul fierului carboximaltoză, scăderea față de nivelul bazal a persistat după 6 și 24 ore (**Figura 4.3**).



**Figura 4.2 Vasodilatația mediată de flux exprimată în procente (FMD%), înainte și la 15 minute, după NaCl 0,9% și fier carboximaltoză**

Variația NO<sub>x</sub> la 30 minute după administrarea FCM nu a fost în relație cu variațiile FMD, ale arginazei sau ale capacității anti-oxidante totale (r=-0,1) p=0,5; r=-0,3 p=0,8; r=-0,04 p=0,8).



**Figura 4.3. Nivelul plasmatic al nitraților/nitriților(NO<sub>x</sub>) la momentele studiului, în funcție de tipul intervenției: NaCl 0,9% și fier carboximaltoză (FCM). \*p<0.05 față de NaCl 0,9%; † p<0.05 față de momentul 0min**

În subloturi definite în funcție de valoarea mediană a variației NO<sub>x</sub> la 30 minute după administrarea FCM a întregului lot, cei cu valori ale variației NO<sub>x</sub> mai mici decât mediana

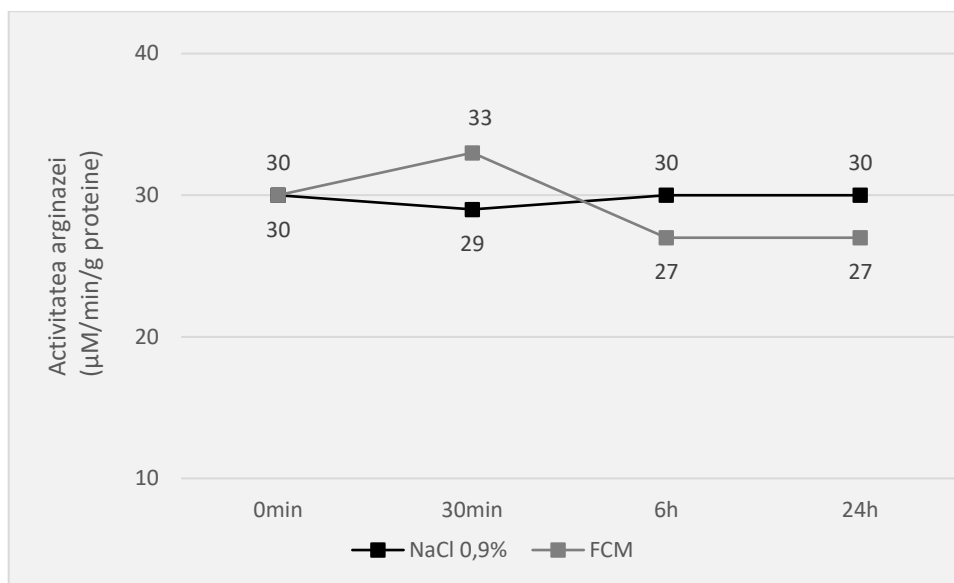
aveau RFGe mai mic, albuminuria mai mare, colesterol total și calciu ionic serice mai mici.

Celelalte caracteristici investigate, inclusiv variația FMD, activitatea plasmatică a arginazei și capacitatea anti-oxidantă totală a serului, au fost similare în ambele subploturi.

### Activitatea plasmatică a arginazei

Activitatea arginazei nu a fost diferită înaintea celor două perfuzii (**Figura 4.4**).

Funcția renală nu a fost corelată cu nivelul bazal al arginazei ( $r=-0,04$ ,  $p=0,8$ ), ceea ce era de așteptat avînd în vedere reducerea similar marcată a RFGe la toți subiecții investigați. Nu au fost diferențe între activitatea sau variația activității arginazei plasmatice după perfuzia cu fier carboximaltoză comparativ cu cea cu NaCl 0,9%, la niciunul dintre momentele studiului (**Figura 4.4**).

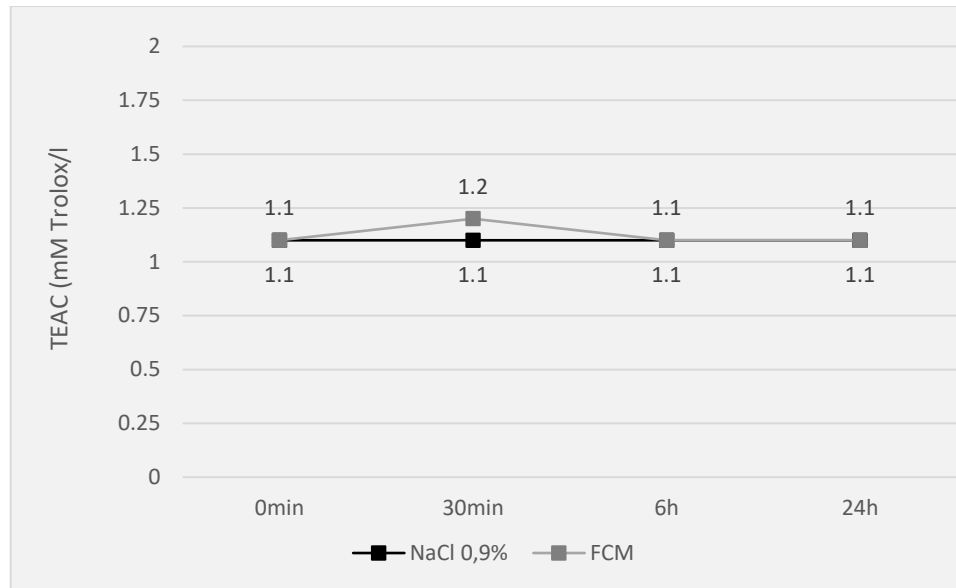


**Figura 4.4. Activitatea arginazei plasmatice la momentele studiului în funcție de intervenție: NaCl 0,9% și fier carboximaltoză (FCM)**

### Stresul oxidativ

#### Capacitatea anti-oxidantă totală a serului

Activitatea antioxidantă totală a fost similară înainte de administrarea celor două perfuzii și nu a fost modificată la niciunul dintre momentele studiului, pentru niciuna dintre cele două intervenții (**Figura 4.5**).



**Figura 4 5. Capacitatea anti-oxidantă a totală a seului (TEAC) la momentele studiului, în funcție de intervenție: NaCl 0,9% și fier carboximaltoză (FCM)**

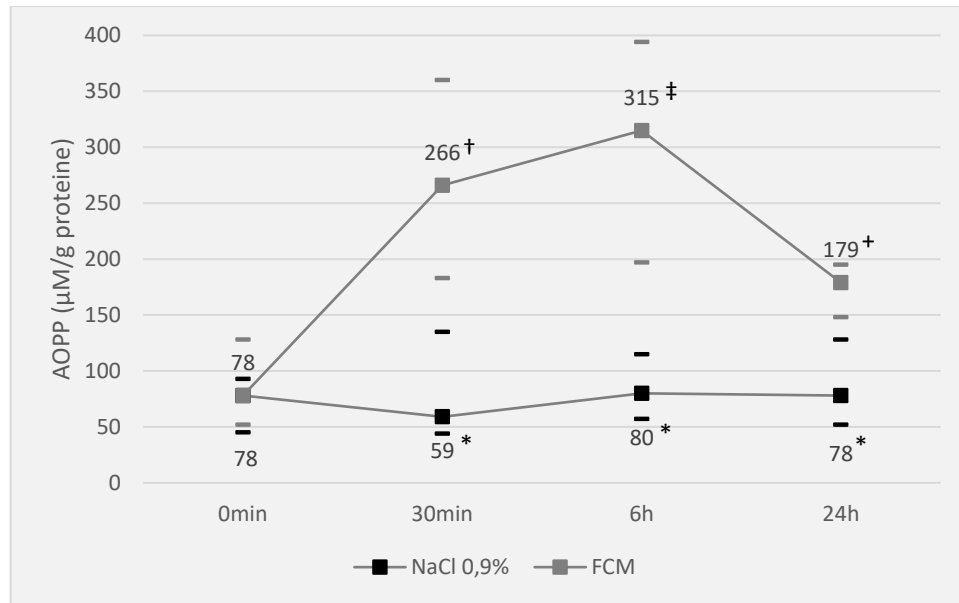
### **Produșii de oxidare avansată a proteinelor (AOPP)**

Au fost determinați la 22 pacienți. Funcția renală nu a fost asociată cu nivelul AOPP bazal.

După administrarea fierului carboximaltoză, nivelul AOPP a crescut comparativ cu administrarea de NaCl 0,9% la toate momentele studiului. Creșterea a fost semnificativă la 30minute după terminarea perfuziei cu fier carboximaltoză și a continuat la 6 ore față de 30minute. Apoi, nivelul AOPP a scăzut după 24 ore față de 6 ore, însă fără a reveni la nivelul bazal (**Figura 4.6**).

În subloturi definite în funcție de valoarea mediană a AOPP la 30 minute după administrarea FCM a întregului lot, cei cu valori ale AOPP mai mare decât mediana aveau anemie mai pronunțată, colesterolul total seric mai mare, fosfatază alcalină totală serică și indicele de masă corporală mai mici.

Variațiile mai mari ale AOPP au fost independent asociate cu anemia mai pronunțată, cu niveluri mai mari ale colesterolului seric și cu niveluri mai mici ale fosfatazei alcaline totale serice.



**Figura 4.6. Nivelul produşilor de oxidare avansată a proteinelor (AOPP) la momentele studiului, în funcţie de intervenţie: NaCl 0,9% şi fier carboximaltoză (FCM). \* p<0,05 faţă de FCM; † p<0,05 vs. 0min; ‡ p<0,05 vs. 30min; † p<0,05 vs. 6h**

## 10. Concluzii finale și contribuții personale

Anemia are o prevalență crescută global (22,8% în 2019), în ciuda unei tendințe la scădere în ultimii 20 de ani. Prima cauză a anemiei este deficitul de fier, nu doar în populația generală, ci și la pacienții cu boli cronice (BCR, insuficiență cardiacă, boli inflamatorii intestinale, neoplazii), inclusiv în țările dezvoltate.

Între 20-40% dintre pacienții cu BCR au deficit de fier, iar anemia este una dintre cele mai frecvente complicații, frecvența ei crescând cu declinul ratei de filtrare glomerulară (RFG). Deficitul de fier joacă rol central în patogenia anemiei la pacientul cu BCR. Impactul clinic al anemiei vizează calitatea vieții, progresia BCR, incidența evenimentelor cardiovasculare și a mortalității.

Tratamentul cu fier este frecvent indicat în BCR, iar preparatele de fier pentru administrare parenterală sunt indicate de elecție chiar la pacientul cu BCR non-dializat, întrucât terapia orală cu fier are limitări date atât de răspunsul mai lent al hematopoiezei cât, mai ales, de aderența redusă la tratament, din cauza toleranța digestive reduse.

Tratamentul cu preparate de fier pentru administrare parenterală este eficient în atingerea și menținerea nivelului țintă al hemoglobinei și în reducerea necesarului de eritropoietină și este superior tratamentului cu fier pe cale orală. În particular la pacienții hemodializați, fierul administrat parenteral este preferat, întrucât sunt evitate puncțiile venoase suplimentare.

Preparatele de fier intravenos sunt nanoparticule formate dintr-un miez de oxihidroxid feric învelit într-o capsulă de carbohidrați. În funcție de caracteristicile nano-moleculii, diversele preparate se comportă diferit. Astfel, după administrarea parenterală, este posibil ca o cantitate de fier, variabilă în funcție de preparat, să fie eliberată direct în sânge, fără ca fierul eliberat să fie legat de transferină. Fierul plasmatic „liber” este redox activ și poate produce radicali liberi și stres oxidativ.

Studii *in vitro* și *in vivo* au evaluat efectul preparatelor de fierului pentru administrare parenterală parenteral la diverse categorii de pacienți cu deficit de fier, cu metodologii, preparate și doze diferite. Rezultatele sunt discordante: unele susțin efecte adverse mediate de stresul oxidativ și disfuncție endotelială, chiar cu impact pe termen lung, altele argumentând pentru reducerea morbidității cardio-vasculare.

Întrucât datele sunt contradictorii, am conceput această lucrare cu scopul de a aprofunda efectul a două preparate uzuale de fier pentru administrare parenterală – fier sucroză și fier carboximaltoză -, unul dintre acestea, fierul carboximaltoză, fiind considerat extrem de sigur. Am structurat cercetarea în patru studii.

După analiza datelor din primul studiu pilot, în care am avut ca obiectiv descrierea morbidității (frecvența, durata și cauzele spitalizărilor) asociată tratamentului de lungă durată cu fier sucroză la pacienți cu BCR hemodializați, am concluzionat că administrarea îndelungată a fierului sucroză pare să influențeze minim cauzele generale și specifice de morbiditate la pacienți cu BCR hemodializați non-diabetici. Totuși, dozele mari de fier sucroză par asociate cu creșterea riscului de spitalizare. Ca urmare, în condițiile în care datele din studiile anterioare sunt contradictorii, chiar dacă dozele mai mici (100-200mg fier sucroză/lună) sunt sigure pentru tratamentul anemiei la pacienții cu BCR dializați, în cazul dozelor mai mari este nevoie de precauție.

Continuând cercetarea cu cel de-al doilea studiu, prospectiv încrucișat, am avut ca obiectiv investigarea modificărilor stresului oxidativ în timpul ședințelor de hemodializă la pacienții la care a fost sau nu administrat tratament intravenos cu fier.

Am observat că o doză uzuală de fier sucroză (100 mg) poate agrava acut activitatea antioxidantă eritrocitară la pacienții hemodializați cronic, după cum sugerează consumul de glutatation redus și scăderea mai mare a capacității antioxidante totale a eritrocitelor după perfuzia cu fier. Totuși, fierul sucroză pare să aibă o influență limitată asupra statusului antioxidant extracelular. În același timp, fierul sucroză augmentează stresul oxidativ preexistent la pacienții hemodializați, fără ca stresul carbonil să fie influențat, ceea ce este susținut de peroxidarea crescută a lipidică (TBARS, ox-LDL), în timp ce compușii dicarbonil și fructozamina au rămas nemodificate.

Însă semnificația clinică a acestor observații și impactul lor potențial asupra stării de sănătate pe termen lung necesită studii suplimentare.

Validitatea rezultatelor este susținută de natura prospectivă și caracterul încrucișat al studiului.

Ținând cont că datele comparative cu privire la efectul diferitelor preparate de fier parenteral asupra funcției endoteliale sunt limitate, lucrarea de față aduce contribuții într-

o zonă de cercetare în continuă aprofundare. Astfel, în cel de-al treilea studiu prospectiv încrucișat, am avut ca obiectiv investigarea modificărilor acute ale funcției endoteliale al fierului sucroză comparativ cu cele ale fierului carboximaltoză, la pacienți cu BCR non-dializați.

Reactivitatea arterială a fost alterată acut de administrarea intravenoasă de fier sucroză, dar nu și de fier carboximaltoză, la pacienți cu BCR non-dializați cu o prevalență mare a deficitului de fier. Deși există limite ale acestui studiu, nefiind determinați indicatorii biologici ai disfuncției endoteliale, rezultatele susțin datele anterioare, în care fierul sucroză, și nu fierul carboximaltoză, este implicat în disfuncția endotelială acută.

Continuând cercetarea am investigat preparatul parenteral fier carboximaltoză. Acest preparat este cel mai puțin investigat din punct de vedere al impactului acut asupra stresului oxidativ și disfuncției endoteliale, fiind considerat a avea un profil de siguranță foarte bun.

În acest studiu, am evaluat efectul administrării fierului carboximaltoză, în doză de 1g, pacienților cu BCR non-dializați. Studiul beneficiază de o metodologie adecvată. În primul rând, pacienții au fost atent selecționați, pentru a permite evaluarea vasodilatației mediate de flux. Astfel, au fost excluși pacienții care aveau vasodilatația mediată de flux alterată (mai mică 7%). În al doilea rând, au fost determinați parametri biochimici ai funcției endoteliale și indicatori ai stresului oxidativ, simultan cu parametri clinici ușor de determinat (vasodilatația mediată de flux). Până în prezent, a fost publicat numai un singur alt studiu cu obiective asemănătoare, dar cu un număr mai mic de pacienți.

Fierul carboximaltoză nu a influențat vasodilatația mediată de flux în niciun moment al studiului (30min, 6h, 24 de ore după administrare), în condițiile în care, paradoxal, reduce persistent (24 ore) nivelul plasmatic al metaboliților oxidului nitric. Reducerea persistentă a nivelului plasmatic al metaboliților oxidului nitric poate avea două cauze. Fie este consecința disfuncției endoteliale induse de FCM, adică reducerea producției de NO prin inhibiția NO sintetazei endoteliale de stresul oxidativ, fie este consecința consumului NO<sub>x</sub> pentru formarea de NO prin reducere, pe căi independente de NO-sintetaze. Deoarece, în condițiile studiului, administrarea FCM nu a modificat vasodilatația mediată de flux, este probabil ca reducerea nivelului metaboliților oxidați circulanți ai NO să fi fost produsă de



reducerea lor la NO, pe calea independentă de NO sintetaze, iar NO astfel produs a prevenit alterarea reactivității vasculare. Această ipoteză constituie o prioritate a cercetării din cadrul lucrării de doctorat.

Administrarea FCM nu modifică capacitatea anti-oxidantă a serului, ceea ce sugerează, în concordanță cu alte studii, efectul nesemnificativ al FCM asupra stresului oxidativ prin eliberarea de fier liber în circulație. Cu toate acestea, FCM a crescut persistent nivelul plasmatic al produșilor de oxidare avansată a proteinelor. Evidențierea pentru prima dată a generării de produși de oxidare avansată a proteinelor după tratament parenteral cu fier carboximaltoză este o altă prioritate a prezentei teze de doctorat.

Deci, deși stresul oxidativ generat de administrarea intra-venoasă a FCM pare redus, este suficient pentru a produce oxidarea proteinelor. Studii anterioare au arătat asocieri între cantitatea de fier sucroză administrată parenteral, nivelul produșilor de oxidare avansată a proteinelor și indicatori preclinici ai aterosclerozei (creșterea grosimii intimă medie la carotida comună).

Cum studiile controlate care au evaluat utilitatea și siguranța administrării parenterale a preparatelor de fier, inclusiv FCM, nu au avut ca parametru primar supraviețuirea, studiul de față aduce în atenție posibilitatea accentuării, în timp, a leziunilor endoteliale ca urmare a tratamentului parenteral cu FCM.

În concluzie contribuțiile personale ale cercetării din teza de doctorat constau în demonstrarea:

1. efectului pro-oxidant preponderent asupra hematiilor al administrării intra-venoase a fierului sucroză, preparatul parenteral cu vechime considerabilă și cel mai mult utilizat. În același timp, fierul sucroză crește stresul oxidativ, rezultând peroxidarea lipidelor (inclusiv LDL);
2. pentru prima dată, că fierul carboximaltoză nu modifică vasodilatația mediate de flux, în condițiile în care metaboliții oxidați stabili ai NO scad. Pentru a explica acest rezultat, a fost emisă ipoteza originală a reducerii nivelului metaboliților oxidați stabili ai NO la oxid nitric, pe căi independente de NO sintetaze;

3. pentru prima dată, că nivelul produșilor de oxidare avansată a proteinelor crește persistent după administrarea parenterală a fierului carboximaltoză, ceea ce sugerează posibilitatea de inițiere sau agravare a leziunilor endoteliale.

Cercetarea din cadrul lucrării de doctorat deschide calea către explorarea, în condiții clinice, a altor efecte ale administrării parenterale ale unor preparate de fier atât asupra endoteliului (expresia moleculelor de adeziune), cât și a metabolismului factorului de creștere fibroblastic 23, principalul factor de control al fosfaturiei. De asemenea, validarea ipotezei menținerii unui nivel adecvat al oxidului nitric pe căi independente de NO-sintetaze, ar deschide noi perspective în înțelegerea metabolismului oxidului nitric, cu implicații terapeutice.

## BIBLIOGRAFIE

1. Gardner W, Kassebaum N. Global, Regional, and National Prevalence of Anemia and Its Causes in 204 Countries and Territories, 1990–2019. *Current Developments in Nutrition*, 4(Supplement\_2):830-, 2020.
2. Pasricha SR, Tye-Din J, Muckenthaler MU, Swinkels DW. Iron deficiency. *Lancet*, 397(10270):233-48, 2021.
3. Gotloib L, Silverberg D, Fudin R, Shostak A. Iron deficiency is a common cause of anemia in chronic kidney disease and can often be corrected with intravenous iron. *Journal of nephrology*, 19(2):161-7, 2006.
4. Palaka E, Grandy S, van Haalen H, McEwan P, Darlington O. The Impact of CKD Anaemia on Patients: Incidence, Risk Factors, and Clinical Outcomes-A Systematic Literature Review. *International journal of nephrology*, 2020:7692376, 2020.
5. Guedes M, Muenz D, Zee J, Lopes MB, Waechter S, Stengel B, et al. Serum biomarkers of iron stores are associated with worse physical health-related quality of life in nondialysis-dependent chronic kidney disease patients with or without anemia. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 36(9):1694-703, 2021.
6. Cho ME, Hansen JL, Sauer BC, Cheung AK, Agarwal A, Greene T. Heart Failure Hospitalization Risk associated with Iron Status in Veterans with CKD. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 16(4):522-31, 2021.
7. Group KDIGOKAW. KDIGO clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*, (2):279-335, 2012.
8. Macdougall IC, White C, Anker SD, Bhandari S, Farrington K, Kalra PA, et al. Intravenous Iron in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis. *The New England journal of medicine*, 380(5):447-58, 2019.
9. Macdougall IC, Bock AH, Carrera F, Eckardt KU, Gaillard C, Van Wyck D, et al. FIND-CKD: a randomized trial of intravenous ferric carboxymaltose versus oral iron in patients with chronic kidney disease and iron deficiency anaemia. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 29(11):2075-84, 2014.
10. Anker SD, Comin Colet J, Filippatos G, Willenheimer R, Dickstein K, Drexler H, et al. Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *The New England journal of medicine*, 361(25):2436-48, 2009.

11. Ponikowski P, Kirwan BA, Anker SD, McDonagh T, Dorobantu M, Drozd J, et al. Ferric carboxymaltose for iron deficiency at discharge after acute heart failure: a multicentre, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet*, 396(10266):1895-904, 2020.
12. Ponikowski P, van Veldhuisen DJ, Comin-Colet J, Ertl G, Komajda M, Mareev V, et al. Beneficial effects of long-term intravenous iron therapy with ferric carboxymaltose in patients with symptomatic heart failure and iron deficiencydagger. *European heart journal*, 36(11):657-68, 2015.
13. Rozen-Zvi B, Gafter-Gvili A, Paul M, Leibovici L, Shpilberg O, Gafter U. Intravenous versus oral iron supplementation for the treatment of anemia in CKD: systematic review and meta-analysis. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 52(5):897-906, 2008.
14. Bhandari S, Allgar V, Lamplugh A, Macdougall I, Kalra PA. A multicentre prospective double blinded randomised controlled trial of intravenous iron (ferric Derisomaltose (FDI)) in Iron deficient but not anaemic patients with chronic kidney disease on functional status. *BMC nephrology*, 22(1):115, 2021.
15. Munoz M, Martin-Montanez E. Ferric carboxymaltose for the treatment of iron-deficiency anemia. [corrected]. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 13(6):907-21, 2012.
16. Jahn MR, Andreasen HB, Futterer S, Nawroth T, Schunemann V, Kolb U, et al. A comparative study of the physicochemical properties of iron isomaltoside 1000 (Monofer), a new intravenous iron preparation and its clinical implications. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV*, 78(3):480-91, 2011.
17. Van Wyck D, Anderson J, Johnson K. Labile iron in parenteral iron formulations: a quantitative and comparative study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 19(3):561-5, 2004.
18. Rooyackers TM, Stroes ES, Kooistra MP, van Faassen EE, Hider RC, Rabelink TJ, et al. Ferric saccharate induces oxygen radical stress and endothelial dysfunction in vivo. *European journal of clinical investigation*, 32 Suppl 1:9-16, 2002.
19. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 9(12 Suppl):S16-23, 1998.

20. Agarwal R, Vasavada N, Sachs NG, Chase S. Oxidative stress and renal injury with intravenous iron in patients with chronic kidney disease. *Kidney international*, 65(6):2279-89, 2004.
21. Leehey DJ, Palubiak DJ, Chebrolu S, Agarwal R. Sodium ferric gluconate causes oxidative stress but not acute renal injury in patients with chronic kidney disease: a pilot study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 20(1):135-40, 2005.
22. Lim PS, Wei YH, Yu YL, Kho B. Enhanced oxidative stress in haemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 14(11):2680-7, 1999.
23. Bolanos L, Gonzalez-Juanatey C, Testa A, Ranero R. Intravenous iron sucrose does not impair sonographic brachial vasodilation in peritoneal dialysis patients. *Advances in peritoneal dialysis Conference on Peritoneal Dialysis*, 24:90-5, 2008.
24. Ozkurt S, Ozenc F, Degirmenci NA, Temiz G, Musmul A, Sahin G, et al. Acute and subacute effects of EV iron sucrose on endothelial functions in hemodialysis patients. *Renal failure*, 34(1):1-6, 2012.
25. Martin-Malo A, Merino A, Carracedo J, Alvarez-Lara MA, Ojeda R, Soriano S, et al. Effects of intravenous iron on mononuclear cells during the haemodialysis session. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 27(6):2465-71, 2012.
26. Mircescu G CA. *Ghiduri de Practica Medicala. Anemia Secundara Bolii Cronice de Rinichi* Bucharest, Romania: ARTPRINT; 2008.
27. Martin-Malo A, Castillo D, Castro M, Perez R, Rios A, Jaraba M, et al. Biocompatibility of dialysis membranes: a comparative study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 6 Suppl 2:55-8, 1991.
28. Yee J, Besarab A. Iron sucrose: the oldest iron therapy becomes new. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 40(6):1111-21, 2002.
29. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105:121-6, 1984.
30. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 61:882-8, 1963.

31. Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47(3):469-74, 1974.
32. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*, 84(4):407-12, 1993.
33. Rice-Evans CA DA, Symons MCR. *Techniques in Free Radical Research*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier; 1991 11th December 1991. 290 p.
34. Lamont J, Campbell J, FitzGerald P. Measurement of individual vs total antioxidants. *Clinical chemistry*, 43(5):852-4, 1997.
35. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology*, 186:407-21, 1990.
36. Mitchel RE, Birnboim HC. The use of Girard-T reagent in a rapid and sensitive methods for measuring glyoxal and certain other alpha-dicarbonyl compounds. *Analytical biochemistry*, 81(1):47-56, 1977.
37. Furth AJ. Methods for assaying nonenzymatic glycosylation. *Analytical biochemistry*, 175(2):347-60, 1988.

## LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

### Articole:

1. **Mehedinti AM, Lipan M; Stancu S, Mircescu G, Capusa C. Acute Effects of Iron Sucrose and Iron Carboxymaltose on Endothelial Function in Nondialysis Chronic Kidney Disease Patients.** American Journal of Therapeutics. 2020 April, 28;29(2):e175-e181. doi: 10.1097/MJT.0000000000001091. PMID: 35389571. ISI; IF2.68;  
[https://journals.lww.com/americantherapeutics/Abstract/2022/04000/Acute\\_Effects\\_of\\_Iron\\_Sucrose\\_and\\_Iron.2.aspx](https://journals.lww.com/americantherapeutics/Abstract/2022/04000/Acute_Effects_of_Iron_Sucrose_and_Iron.2.aspx). (Capitolul 8, pag. 93-106)
2. **Mehedinti AM, Capusa C, Andreiana I, Popa O, Mircescu G. Long-Term Intravenous Iron Therapy and Morbidity in Hemodialysis Patients.** Maedica (Bucur). 2021 June;16(2):194-199. doi: 10.26574/maedica.2021.16.2.194. PMID: 34621339; PMID: PMC8450661. BDI;  
[https://www.maedica.ro/articles/2021/2/2021\\_16\(19\)\\_No2\\_pg194-199.pdf](https://www.maedica.ro/articles/2021/2/2021_16(19)_No2_pg194-199.pdf). (Capitolul 6, pag. 51-59)
3. **Mehedinti AM, Capusa C, Andreiana I, Mircescu G. Intravenous Iron-Carbohydrate Nanoparticles and Their Similar. What Do We Choose?** Maedica (Bucur). 2022 Jun;17(2):436-448. doi: 10.26574/maedica.2022.17.2.436. PMID: 36032600; PMID: PMC9375892. BDI;  
[https://www.maedica.ro/articles/2022/2/2022\\_17\(20\)\\_No2\\_pg436-448.pdf](https://www.maedica.ro/articles/2022/2/2022_17(20)_No2_pg436-448.pdf). (Capitolul 4, pag. 30-45)

### Rezumate:

1. **AM Mehedinti, L Iosif, I Stoian, S Stancu, G Mircescu, C Capusa. Acute Effects of a Single Intravenous Iron Dose on Endothelial Function and Oxidative Stress in Non-Dialysis Chronic Kidney Disease Patients. Protocol for a Cross-Over, Single-Center Study.** Abstracts of the 30th Meeting of the European Renal Cell Study Group (ERCSG). Nephron 2018;139:83-111. doi: 10.1159/000488293;  
<https://karger.com/nef/article/139/1/83/211623/Abstracts-of-the-30th-Meeting-of-the-European>.

2. **AM Mehedinti, L Iosif, I Stoian, I Andreiana, C Capusa, G Mircescu, Acute impact of a single high dose of ferric carboxymaltose on endothelial function in CKD non-dialysis patients.** Mini Orals of the 58th ERA-EDTA Congress 2021. Nephrol. Dial. Transplant 2021; 36(1), gfab085.0025, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfab085.0025>.

**Proiecte:**

**Proiect** cu finanțare privată obținută în urma **Competiției pentru finanțarea unui grant de cercetare științifică organizată de SC Sanador SRL, Contract 10488/19.04.2016, durata 1 mai 2016-31 oct. 2017** “**Studiu prospectiv încrucișat privind efectele administrării intravenoase unice de fier asupra disfuncției endoteliale și a unor parametri ai stresului oxidativ la pacienți cu Boală cronică de rinichi non-dializați**”  
Poziție în cadrul proiectului: membru.