

OSTEOCALCIN, ВАР И VITAMIN D - СПЕЦИФИЧНИТЕ КОСТНИ БИОМАРКЕРИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХБЗ И НА ХРОНИОДИАЛИЗА

Светла Стайкова¹, Яна Бочева²

¹Катедра „Вътрешни болести“, УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна, МУ-Варна

²Катедра „Обща медицина и клинична лаборатория“,
УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна, МУ-Варна

OSTEOCALCIN, ВАР AND VITAMIN D - SPECIFIC BONE MARKERS IN CKD AND HEMODIALYSIS PATIENTS

Svetla Staykova¹, Jana Bocheva²

¹Department of Internal Diseases, St. Marina University Hospital,
Medical University of Varna

²Central Clinical laboratory, St. Marina University Hospital, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Костните и минерални нарушения (КМН) при ХБЗ са все по-задълбочено проучвани, профилактирани и лекувани, но въпреки това си остават едни от най-тежките системни и прогресиращи заболявания при пациентите с хронични бъбречни заболявания.

Вторичният хиперпаратиреоидизъм (Вт-ХПТ) е едно от честите усложнения на ХБЗ (хронично бъбречно заболяване), което променя минералния баланс с развитие на костно-минерални нарушения (КМН) и мекотъканни калцификации. При намаляване на гломерулната филтрация (GFR<60 ml/min) фосфорният клирънс се понижава значимо и това води до ретенция на фосфор, стимулиране на синтеза и секрецията на ПТХ (8).

Диализното лечение е бъбречнозаместващ метод, който продължава живота на болните с ХБЗ, временно подобрява наличната костна патология, но по-често ускорява прогресирането ѝ. Ето защо симптомите, развитието и усложненията на КМН - ХБЗ, се демонстрират и изявяват при пациентите на екстракорпорално лечение. Лечението на костно-минералните нарушения изисква постоянно мониториране на Са-Р обмяна, РТН (паратиреоиден хормон), серумните нива на Вит. D и белтъчните костни маркери - остеокалцин, костна алкална фосфатаза - ВАР.

Системното приложение на активните метаболити на витамин D, фосфат-свързващи ве-

ABSTRACT

Bone and mineral disorders (BMD) in chronic kidney disease (CKD) are more thoroughly studied, prevented, and treated, but remain among the worst systematic and progressive diseases in patients with CKD.

Secondary hyperparathyroidism (sHPT) is one of the common complications of CKD. It changes the mineral balance with the development of BMDs or soft tissue calcifications. In the reduction of glomerular filtration (GFR <60 mL/min), phosphorus clearance is significantly reduced and this results in phosphorus retention, stimulation of parathyroid hormone (PTH) synthesis and secretion.

Dialysis treatment is a renal replacement method that prolongs the life of patients with CKD. It temporarily improves the existing bone pathology, but more often accelerates the progression. That is why symptom development and complications of BMD in CKD demonstrate and manifest in the patients' extracorporeal treatment.

The treatment of bone mineral disorders requires continuous monitoring of the Ca-P exchange, PTH, vitamin D serum levels and the protein bone markers - osteocalcin, bone alkaline phosphatase (BAP).

The systemic use of active metabolites of vitamin D, phosphate binders, and calcimimetics in many patients with sHPT alters the biochemical control.

At the Clinic of Dialysis of St. Marina University Hospital, Varna, the serum levels of biomarkers - BAP, osteocalcin, vit D were followed and compared in two groups of patients - on hemodialysis and with CKD - 2/3 stage with sHPT. The results showed statis-

щества и калцимитетици при много от пациентите с ВтХПТ променят биохимичния контрол.

В Клиниката по диализа в УМБАЛ „Св. Марина“ ЕАД се проследиха и сравниха серумните нива на биомаркерите - ВАР, Osteocalcin, Vit D, при две групи болни - на ХД и ХБЗ - 2 / 3 стадий с ВтХПТ. Резултатите показват статистически значими разлики между двете групи в изследваните серумни нива на показателите.

Ключови думи: вторичен хиперпаратиреоидизъм, биомаркери, хемодиализно лечение, преддиализен стадий

ВЪВЕДЕНИЕ

Диализното лечение е бъбречно-заместващ метод, който продължава живота на болните с ХБЗ, временно подобрява наличната костна патология, но по-често ускорява нейното прогресиране. Ето защо, симптомите, развитието и усложненията на КМН-ХБЗ, се демонстрират и извяват при пациентите на екстракорпорално лечение.

Дефицитът на витамин D е важен компонент в патогенезата на ВтХПТ - определя се като намалено серумно ниво на 25 (ОН) D /25 – хидроксивитамин D/ Не рядко този дефицит се установява и в общата популация, но значително по-често е разпространен сред пациентите с ХБЗ (20,17).

Нарушената бъбречна функция е свързана с 32% по-висок риск от недостиг на витамин D, в сравнение с общата популация. Тя се развива рано в хода на хроничното бъбречно нарушение, а разпространението ѝ се увеличава с прогресивната загуба на бъбречната тъкан (8). Витамин D принадлежи към групата на мастноразтворими сексостероли с няколко съществуващи форми. Основните съединения при хората са - витамин D3 (холекалциферол) и витамин D2 (ергокалциферол). Синтезът на витамин D3, индуциран от слънчевата светлина в кожата е основен източник на витамин D в общата популация, но може да бъде доставен и от диетични източници (12,15).

ХБЗ повлиява всички ключови стъпки в метаболизма на витамин D, а именно: производството, активирането и разграждането на витамин D и неговите активни метаболити - на 25 (ОН) D и ниски нива на 1,25 (ОН) 2D (14).

Загубата на вит. D с урината се използва, като маркер за нивата на вит. D при пациенти с високо - степенна протеинурия. Въпреки това, може да се очаква, че с намаляването на вит. D първоначално се намаляват нивата на 1,25 /ОН/ вит. D, а в следствие се променя и фибробластният растежен фактор- FGF-23.

tically significant differences between the two groups in the tested serum levels of the indicators.

Keywords: secondary hyperparathyroidism, biomarkers, hemodialysis treatment, pre-dialysis stage

Изводът, че диабетната нефропатия, а не самият захарен диабет е причина за хиповитаминоза - D, доказва, че протеинурията и хиповитаминоза - D са две различни последствия от това усложнение (18,19).

Използването на витамин D - рецепторен активатор в преддиализен стадий има инхибиторен ефект върху повишаване на серумното ниво на PTH в момента на започване на диализа.

Костната алкална фосфатаза (ВАР) е костно-специфичната изоформа на алкалната фосфатаза. Гликопротеин, който се намира на повърхността на остеобластите, ВАР отразява биосинтетичната активност на тези костно образувачи клетки. Тя е доказано чувствителен и надежден показател за костния метаболизъм (1). Изследването на ВАР в серума е от голямо значение за мониторинга на лечението в клиничната практика при пациенти на диализно лечение.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Осъществи се изследване на биомаркерите - Vit D и Osteocalcin, ВАР при две групи пациенти – първата група - 35 мъже / 32 жени на ХД лечение в клиниката по Диализа - УМБАЛ „Св. Мрина“ ЕАД - провеждащи 3 пъти седмично диализни сеанси по 4 часа, с продължителност на диализното лечение от 2-9 години, и втората група - 28 мъже / 27 жени в преддиализен стадий с ХБЗ.

Използваха се следните методи за изследване на 25 ОН Vitamin D, Остеокалцин и ВАР OSTASE®:

Тестът LIAISON® 25 ОН Vitamin D TOTAL прилага технология на хемилуминесцентен имуноен тест (CLIA) за количественото определяне на

25-хидроксивитамин D и други хидроксилирани метаболити на витамин D в човешки серум.

Тестът LIAISON® Остеокалцин на DiaSorin представлява едностъпков имунохемилуминисцентен анализ (ИХЛА), предназначен за количествено определяне на полипептида **остеокалцин** в човешкият серум.

Анализът DiaSorin LIAISON® BAP OSTASE® представлява едностъпков допълнителен имунохемилуминисцентен анализ (ИХЛА) на принципа на “сандвича”, предназначен за количествено определяне на **костната алкална фосфатаза (BAP)** в човешки серум.

Прецизността на анализа с LIAISON® е оценена съгласно CLSI EP5-A2. Всички кръвни проби за изследваните биомаркери са взети в началото на диализния сеанс в „жълт“ вакутейнер - 5 ml от кръвните хемолинии, преди поставянето на антикоагулант в екстракорпоралната система. Кръвната проба се цетрофугира за 10 мин. на 3600 оборота и след коагулация серумът се отдели от съсирека.

За статистически анализ на данните е използван специализиран пакет - StatSoft Inc, USA, STATISTICA Manual (Data analysis software system), Version 10.0, 2010.

1. Дескриптивен статистически анализ – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване, средните стойности и стандартните отклонения, 95% доверителни интервали на изменение на средните стойности.
2. Тест на Стюdent (t-критерий) за две независими извадки -за откриване на статистически значима разлика в средните стойности на даден фактор у две групи пациенти.
3. Тест на Стюdent (t-критерий) за две сдвоени извадки - за откриване на статистически значима разлика в средните стойности на даден фактор преди и след лечението.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

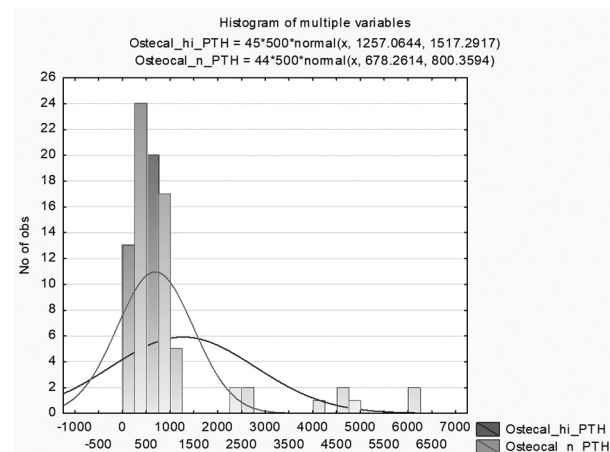
Нарушената бъбречна функция при хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) води до патологични изменения в костният метаболизъм с развитие на костно - минерални нарушения, биохимични промени на специфични белтъчни серумни костни маркери, съдови, мекотъканни калцифиати (16).

Остеокалцинът е основният неколагенов белтък в човешките кости. Той се синтезира от остеобластите и одонтобластите на костната тъкан. Основната част от синтезирания белтък влиза

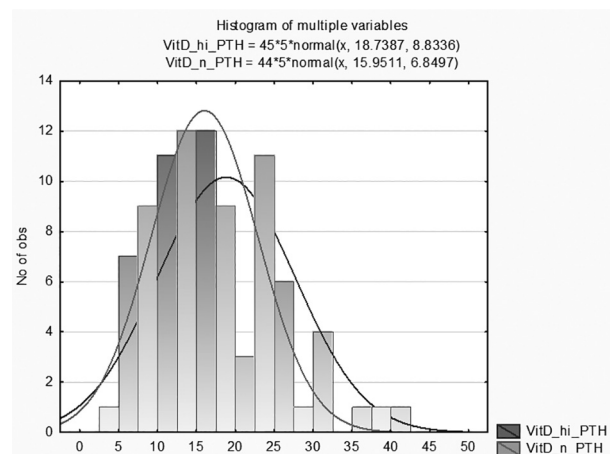
в състава на извънклетъчния костен матрикс, който после се минерализира с образуването на нова кост, а останалата част попада в кръвообръщението. При резорбция на костна тъкан под действието на остеокластите, остеокалцинът се освобождава от костния матрикс и попада в кръвоносната система. По този механизъм, нивата му в кръвта се явяват показател за промените в метаболизма на костната тъкан. Неговите стойности се повишават при метаболитни костни заболявания с ускорен костен метаболизъм като остеопороза, остеомаляция и рахит, хиперпаратиреозидизъм, ренална остео дистрофия, тиреотоксикоза и акромегалия. Той има ниски стойности при дефицит на растежен хормон, хипопаратиреозидизъм, хипотиреозидизъм (6).

Налице е статистически достоверна разлика в средните стойности на остеокалцина между болните с ХБЗ-КМН преди и след хемодиализното лечение. Това се асоциира с промени в серумните нива на PTH при тези групи пациенти (фиг. 1).

От нашето проучване се установи несигнификантна значима разлика в стойностите на вит. D в двете групи изследвани пациенти – в преддиализен и диализен стадий (фиг. 2).



Фиг. 1



Фиг. 2

Дефицитът на витамин D е свързан с метаболитен синдром и затлъстяване (3) при ХД пациентите. При пациенти на перитонеална диализа, ниските нива на витамин D са свързани с когнитивно увреждане (13). При реципиентите на трансплантация, ниското серумно ниво на 25 (ОН) D е свързано с бързо намаляване на бъбречната функция (5). Дефицитът на витамин D е свързан с инсулинова резистентност, камерна хипертрофия, атеросклероза и съдови калцификации (12).

Недостигът на витамин D, който включва както серумните нива 25 (ОН) D, така и нивата на 1,25 (ОН) D, обикновено се наблюдава при пациенти с ХБЗ и на хроничен диализа. Основното последствие е ВтХПТ, а активните метаболити на витамин D - остават на първа линия за превенцията и лечение. Ниските нива на 25 (ОН) D се свързват с висок костен обмен, вторичен хиперпаратиреоидизъм и намалена костна минерална плътност (КМП) при пациенти с ХБН и диализа (14).

Вторичният хиперпаратиреоидизъм може да доведе до хиперпаратиреоидно костно заболяване – честа причина за болки в костите и ставите при пациентите на диализа, намаляване на костната маса и респективно повишен риск от костни фрактури (9,13). Рискът от фрактури на тазобедрената става е приблизително 3 до 4 пъти по-висок в популацията с КМН, отколкото в общата популация от смесени случаи (2).

При намаляване на гломерулната филтрация (GFR<60 ml/min), фосфорният клирънс се понижава значимо, което води до ретенция на фосфора, стимулиране на синтеза и секрецията на ПТХ.

Нова теория за патогенезата на ВтХПТ поставя повече акцент върху контрола на нивата на серумния фосфор (1). Тази по-нова теория доказва, че предизвиканото от ХБЗ увредено активиране на витамин D не е причина за хиперпаратиреоидизъм, а като адаптивна реакция към процеси, настъпващи много по-рано в каскадата на възникването ѝ. Според тази теория хиперфосфатемията води до повишаване на нивата на циркулиращия фибробластен растежен фактор 23 (FGF-23). Заедно с протеина Klotho, FGF-23 се опитва да възстанови ефективния клирънс на фосфора и в допълнение - FGF-23 блокира производството на активен витамин D(9). Хиперфосфатемията е едно от най-универсалните усложнения при ХБЗ и при не своевременно лечение води до пруритус, костни болки, анемия, сърдечно-съдови усложнения, инвалидизация и намалена пре-

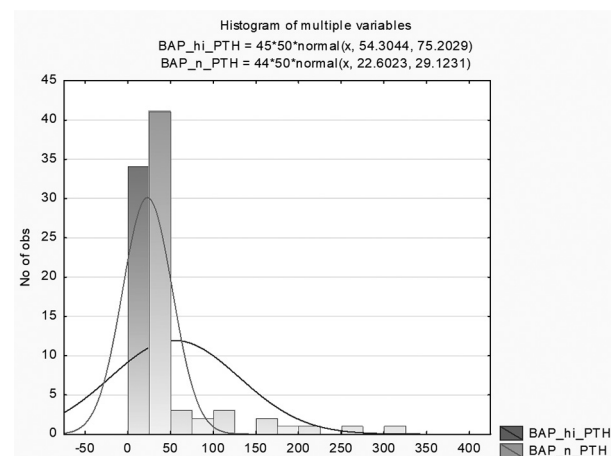
живяемост. Съдовата калцификация – водещ механизъм за повишената смъртност, може да индуцира ендотелна дисфункция, която директно стимулира съдови гладко-мускулни клетки, претърпяващи фенотипни промени (22,8).

Проучвания установяват, че ако скоростта на резорбция надхвърля скоростта на образуване, резултатната костна загуба може да доведе до остеопороза и следователно до по-висока чувствителност към фрактури (4).

От гледна точка на относително лесната и точна методология за определяне на костната алкална фосфатаза, по-тясната физиологична връзка с функцията на остеобластите и по-малките разходи за нейното определяне се предполага, че този маркер е важен за неинвазивна диагностика на адинамичната костна болест при диализните пациенти.

L. Yessayan и съавт. (2017) изследват реорганизацията на костта с помощта на костно-специфична алкална фосфатаза и костна биопсия при болни с ХБЗ на хемодиализа, като диагностицират адинамична болест и различно изразени костни промени при хиперпаратиреоидизъм. При референтна стойност от 22 ng/mL този ензим е оптимален прогностичен фактор при костната биопсия. При стойностите му над 22 ng/mL и тези на интактния паратиреоиден хормон под 726 pg/mL се приема, че има леко до умерено изразена реорганизация на костната тъкан. Високите нива на ВАР са свързани с инвалидизацията и високата смъртност при пациенти на диализа, като се подчертава доминантното ѝ въздействие върху костния обмен (11).

Нашите резултати показват сигнификантно значима разлика в серумната ВАР при изследваните групи пациенти – с висок РТН и нормален РТН при ХД-болните, което съответства на проучванията в чуждата литература (фиг. 3).



Фиг. 3

S. Sardiwal и съавт. (2013), предлагат използването на костно-специфичната алкална фосфатаза като алтернативен подход по отношение на паратиреоидния хормон, тъй като този ензим е непосредствено свързан с реорганизацията на костта, отразява нейната хистоморфометрия и може да предскаже резултатите от хемодиализното лечение при болните с хронични бъбречни заболявания и нарушения на костно-минералния метаболизъм (23).

Стойностите на костно-специфичната алкална фосфатаза и интактния паратиреоиден хормон варират в най-широки граници. Нивата на специфични белтъчни биомаркери - костната алкална фосфатаза и витамин D са много ниски при болните на хронично хемодиализа, както и при пациентите, на които предстои включване в диализната програма (11).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лечението на КМН изисква постоянно мониториране на Са-Р обмяна, белтъчните костни маркери - PTH, серумните нива на Вит. D, остеокалцин и костна алкална фосфатаза.

Съвременните аспекти на лечение включват стероли на витамин D и фосфат-свързващи средства, които често се оказват недостатъчни за постигане на таргетните нива на PTH, калций и фосфор (KDIGO 2009). Понякога приемането на витамин D и фосфат-свързващите средства се асоциира с редица нежелани събития и предизвикателства, които може да окажат неблагоприятно въздействие върху придържането и постоянството на пациентите по отношение на терапията (4,7,10).

Въпреки широко разпространената употреба на метаболитите на витамин D, фосфат-свързващи вещества и калцимитетици (21), при много от пациентите с ХБЗ и на диализно лечение се наблюдава неадекватен биохимичен контрол.

ЛИТЕРАТУРА

- Arbor Research Collaborative for Health: 2012 Annual Report of the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study: Hemodialysis Data 1997-2011.
- Arneson TJ, Li S, Liu J, et al. Trends in hip fracture rates in US hemodialysis patients, 1993-2010. *Am J Kidney Dis.* 2013;62:747-754.
- Ahmadi, F.; Damghani, S.; Lessan-Pezeshki, M.; Razeghi, E.; Maziar, S.; Mahdavi-Mazdeh, M. Association of low vitamin D levels with metabolic syndrome in hemodialysis patients. *Hemodial. Int.* 2016, 20, 261-269. [CrossRef] [PubMed]
- Block GA, Kilpatrick RD, Lowe KA, et al. CKD-mineral and bone disorder and risk of death and cardiovascular hospitalization in patients on hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013;8:2132-2140.
- Bienaime, F.; Girard, D.; Anglicheau, D.; Canaud, G.; Souberbielle, J.C.; Kreis, H.; Noel, L.H.; Friedlander, G.; Elie, C.; Legendre, C.; et al. Vitamin D status and outcomes after renal transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2013, 24, 831-841. [CrossRef] [PubMed]
- Cozzolino M, Tomlinson J, Walsh L, et al. Emerging drugs for secondary hyperparathyroidism. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2015;20:197-208.
- Danese MD, Belozeroff V, Smirnakis K, et al. Consistent control of mineral and bone disorder in incident hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:1423-1429.
- Drueke TB, Massy ZA. Circulating Klotho levels: clinical relevance and relationship with tissue Klotho expression. *Kidney Int.* 2013;83:13-15.
- Goodman WG, Quarles LD. Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: lessons from molecular genetics. *Kidney Int.* 2008;74:276-288.
- Heaney RP. Vitamin D in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(5):1535-1541. submit your manuscript | www.dovepress.com International Journal of Nephrology and Renovascular Disease 2017:10
- Ishimura E, Okuno S, Okazaki H, Norimine K, Yamakawa K, Yamakawa T, Shoji S, Nishizawa Y, Inaba M. Significant association between bone-specific alkaline phosphatase and vascular calcification of the hand arteries in male hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res.* 2014;39(4):299-307.
- Kilpatrick RD, Danese MD, Belozeroff V, et al. The association of vitamin D use with hypercalcemia and hyperphosphatemia in hemodialysis patients: a case-crossover study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2011;20:914-921

16. Liu, G.L.; Pi, H.C.; Hao, L.; Li, D.D.; Wu, Y.G.; Dong, J. Vitamin D Status Is an Independent Risk Factor for Global Cognitive Impairment in Peritoneal Dialysis Patients. *PLoS ONE* 2015, 10, e0143782. [CrossRef] [PubMed]
17. Mehrotra R, Kermah D, Budoff M, et al. Hypovitaminosis D in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(4):1144–1151.
18. Michaud, J.; Naud, J.; Ouimet, D.; Demers, C.; Petit, J.L.; Leblond, F.A.; et al. Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2010, 21, 1488–1497. [CrossRef] [PubMed]
19. Moe SM, Thadhani R. What have we learned about chronic kidney disease-mineral bone disorder from the EVOLVE and PRIMO trials? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22:651–655.
20. Natoli JL, Boer R, Nathanson BH, et al. Is there an association between elevated or low serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and mortality in patients with end stage renal disease? A meta-analysis. *BMC Nephrol*. 2013;14:88
21. Obi, Y.; Hamano, T.; Ichimaru, N.; Tomida, K.; Matsui, I.; Fujii, N.; Okumi, M.; Kaimori, J.Y.; Yazawa, K.; Kokado, Y.; et al. Vitamin D deficiency predicts decline in kidney allograft function: A prospective cohort study. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2014, 99, 527–535. [CrossRef] [PubMed]
22. Palmer SC, McGregor DO, Macaskill P, et al. Meta-analysis: vitamin D compounds in chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2007;147:840-853.
23. Park H, Rascati KL, Lawson KA, et al. Adherence and persistence to prescribed medication therapy among Medicare part D beneficiaries on dialysis: comparisons of benefit type and benefit phase. *J Manag Care Pharm*. 2014;20:862-876.
24. Reams BD, Dluzniewski PJ, Do TP, et al. Dynamics of cinacalcet use and biochemical control in hemodialysis patients: a retrospective New-user cohort design. *BMC Nephrol*. 2015b;16:175.
25. Saliba W, El-Haddad B. Secondary hyperparathyroidism: pathophysiology and treatment. *J Am Board Fam Med*. 2009;22:574-581.
26. Sardival S, Magnusson P, Goldsmith DJ, Lamb EJ. Bone alkaline phosphatase in CKD-mineral bone disorder. *Am J Kidney Dis*. 2013;62(4):810-822.