



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



Андреја Фигурек

**Улога фибробластног фактора раста 23 у раној
дијагностици поремећаја метаболизма минерала и
коштане масе у хроничној бубрежној болести**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Бања Лука, 2017.



UNIVERSITY OF BANJA LUKA

FACULTY OF MEDICINE



Andreja Figurek

**THE ROLE OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23
IN EARLY DIAGNOSIS OF CHRONIC KIDNEY
DISEASE – MINERAL AND BONE DISORDER**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2017.

1. Ментор:

Проф. др Сњежана Поповић-Пејичић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци

Коментор:

Проф. др Нела Рашета, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци

2. Наслов докторске дисертације:

Улога фибробластног фактора раста 23 у раној дијагностици поремећаја метаболизма минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести

3. Резиме

Увод: Хронична болест бубрега (ХББ) представља све већи проблем данашњице због сталног пораста броја обољелих, иреверзибилних промијена и бројних компликација. Циљ овога истраживања је био испитати улогу нових биомаркера у раној дијагностици поремећаја метаболизма минерала и коштане масе у ХББ (*CKD-MBD*).

Материјал и методе: Истраживање је изведено по моделу студије пресјека и обухватило је 88 пацијената у свим стадијумима ХББ. Старосна доб испитаника је износила $62,84 \pm 11,37$ година, а 56% испитаника је било женског пола. Анализирани су следећи параметри: фибробластни фактор раста 23 (*FGF23*), склеростин, укупни калцијум, фосфат, укупна алкална фосфатаза, коштаноспецифична алкална фосфатаза, витамин *D*, паратиреоидни хормон и дебљина интима-медија комплекса (*IMT*). За анализу података кориштене су методе дескриптивне и аналитичке статистике.

Резултати: Вриједности *FGF23* и склеростина су били повишени у серуму пацијената у раној ХББ (стадијум 1) прије промијена вриједности других *CKD-MBD* параметара и износиле су $80,49 \pm 43,34$ ng/L и $1,67 \pm 0,44$ ng/mL, респективно. Вриједности *IMT* су биле $1,10 \pm 0,20$ mm и биле су повишене од стадијума 2 ХББ. *FGF23* је корелирао позитивно ($r=0,21$, $p<0,05$), а склеростин негативно ($r=-0,29$, $p<0,01$) са вриједностима серумског креатинина. Стадијуми ХББ су се значајно разликовали у односу на ниво фосфата ($p<0,001$), производа калцијума и фосфата

($p < 0,001$), паратиреоидног хормона $< 0,05$ и *IMT* ($p < 0,01$). Пацијенти женског пола су имали више вриједности серумског склеростина у односу на пацијенте мушког пола ($p < 0,001$). Независни предиктор за настанак патолошког налаза *IMT* је животна доб испитаника, а најбољи независни предиктори за настанак атеросклеротског плака у каротидним артеријама су присуство артеријске хипертензије и производ серумског калцијума и фосфата.

Закључак: *FGF23* и склеростин су повишени у серуму пацијената од раног стадијума ХББ. Ови биомаркери би могли имати велику улогу у клиничкој пракси, не само као дијагностички алат, него и у праћењу њихових концентрација као индиректном показатељу терапијског дјеловања на њихове рецепторе и патофизиолошке механизме који су резултат њиховог рецепторског везивања.

4. Кључне ријечи:

хронична болест бубрега, минерално-котани поремећај, фибробластни фактор раста 23, склеростин, интима-медија комплекс.

5. Научна област:

Интерна медицина

6. Научно поље:

Медицина

7. Класификациона ознака према CERIF шифрарнику:

B 560

8. Тип одбране лиценце Креативне заједнице:

Ауторство – некомерцијално – без прераде

1. Mentor:

Prof. Dr. Snježana Popović-Pejičić, Full professor at the Faculty of Medicine, University of Banja Luka

Co-mentor:

Prof. Dr. Nela Rašeta, Full professor at the Faculty of Medicine, University of Banja Luka

2. Title:

The role of fibroblast growth factor 23 in early diagnosis of chronic kidney disease – mineral and bone disorder

3. Abstract:

Introduction: Chronic kidney disease (CKD) is an increasing problem nowadays due to the increasing number of patients, irreversible changes and numerous complications. The aim of this study was to examine the role of new biomarkers in the early diagnosis of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD).

Material and methods: This was a cross sectional study that included 88 patients with all CKD stages. The average age of patients was 62.84 ± 11.37 years, and 56% of them were female. The following parameters were analyzed: fibroblast growth factor 23 (FGF23), sclerostin, total calcium, phosphate, total alkaline phosphatase, bone-specific alkaline phosphatase, vitamin D, parathyroid hormone and intima-media thickness (IMT). Methods of descriptive and analytical statistics were used for data analysis.

Results: The serum levels of FGF23 and sclerostin were elevated from early CKD (stage 1) prior to change in values of other CKD-MBD parameters and amounted 80.49 ± 43.34 ng/L and 1.67 ± 0.44 ng/mL, respectively. The IMT values were 1.10 ± 0.20 mm, elevated from CKD stage 2. FGF23 correlated positively ($r = 0.21$, $p < 0.05$), and sclerostin negatively ($r = -0.29$, $p < 0.01$) with creatinine levels. Patients in diverse CKD stage significantly differed in phosphate levels ($p < 0.001$), calcium and phosphate products ($p < 0.001$), parathyroid hormone < 0.05 , and IMT ($p < 0.01$). Female had higher serum sclerostin values ($p < 0.001$). An independent predictor for pathological findings of IMT was patients age, and the best independent predictors of atherosclerotic plaque in carotid arteries were arterial hypertension and product of serum calcium and phosphate.

Conclusion: FGF23 and sclerostin are elevated from early CKD. These biomarkers could play a major role in clinical practice, not only as a diagnostic tool, but also in monitoring their concentrations as an indirect indicator of therapeutic effect on their receptors and pathophysiological mechanisms resulting from their receptor binding.

4. Key words:

chronic kidney disease, mineral and bone disorder, fibroblast growth factor 23, sclerostin, intima-media thickness.

5. Scientific area:

Internal Medicine

6. Scientific field:

Medicine

7. Classification code according to CERIF coding schemes:

B 560

8. Type of Creative Commons license defense:

Authorship - non-commercial - without processing

*Најмилијима,
Миџајлу, Нади, Александри и Никколи
за несебичну љубав, подршку и разумијевање.*

*Баџи Симеуни,
за Мудрост, Вјеру, Наду и Љубав.*

*„Вук на овицу своје право има, ка тирјанин на слаба човјека; ал' тирјанству стати
ногом за врат, довести га к познању права,
то је људска дужност најсветија.“*

Петар II Петровић Његош

САДРЖАЈ

1. Увод	1
1.1. Процјена бубрежне функције	1
1.2. Физиологија осовине "бубрег-кост-паратиреоидна жлијезда"	4
1.2.1. Метаболизам калцијума и фосфата	4
1.2.2. Витамин D	6
1.2.3. Алкална фосфатаза и коштана алкална фосфатаза	7
1.2.4. Паратиреоидни хормон	8
1.2.5. Фибробластни фактор раста 23	9
1.2.6. Склеростин	12
1.2.7. Физиологија коштаног ремоделовања	15
1.3. Хронична бубрежна болест	17
1.3.1. Дефиниција и стадијуми хроничне бубрежне болести	17
1.3.2. Епидемиологија хроничне бубрежне болести	18
1.3.3. Клиничка слика и компликације хроничне бубрежне болести	21
1.3.4. Терапијски модалитети	22
1.4. Патофизиологија осовине "бубрег- кост- паратиреоидна жлијезда"	23
1.4.1. Поремећај метаболизма минерала	23
1.4.2. Поремећај коштаног метаболизма	25
1.4.3. Кардиоваскуларна болест у уремији	29
2. Хипотеза	37
3. Циљеви истраживања	38
4. Материјал и методе	39
4.1. Избор испитаника	39
4.2. Критеријуми укључивања/неукључивања у истраживање	40
4.2.1. Критеријуми укључивања	40
4.2.2. Критеријуми неукључивања	40
4.3. Формирање група пацијената	41
4.4. Лабораторијска испитивања	42
4.5. Ултразвучно мјерење	42
4.6. Статистичка анализа и приказ података	43
5. Резултати	44

5.1. Анализа карактеристика испитиване популације	44
5.2. Анализа концентрација <i>CKD-MBD</i> параметара у односу на стадијум хроничне болести бубрега	47
5.3. Анализа повезаности између <i>CKD-MBD</i> параметара	54
5.4. Испитивање разлике у вриједностима <i>CKD-MBD</i> параметара у односу на групе болести – почетна, манифестна и терминална бубрежна болест	71
5.5. Испитивање повезаности између <i>CKD-MBD</i> параметара и вриједности <i>IMT</i>	86
5.6. Анализа повезаности између <i>CKD-MBD</i> параметара и <i>IMT</i> унутар сваког стадијума хроничне бубрежне болести	91
5.7. Анализа сензитивности и специфичности <i>CKD-MBD</i> параметара за настанак патолошког налаза <i>IMT</i> и каротидног плака.....	98
5.8. Анализа независних предиктора за настанак патолошког налаза <i>IMT</i> и каротидног плака	103
6. Дискусија	105
7. Закључци	124
8. Литература	127
9. Списак скраћеница	153
10. Биографија	155

1. УВОД

1.1. Процјена бубрежне функције

За грубу процјену бубрежне функције у свакодневном раду се користи одређивање азотних материја (урее, креатинина, мокраћне киселине) и електролита у крви, те преглед урина. На тај начин се индиректно добија податак о екскреторној функцији бубрега. Међутим, у почетним стадијумима бубрежне болести ови параметри не морају, и најчешће нису, изван референтних вриједности. Прецизну мјеру филтрационе способности бубрега представља **јачина гломерулске филтрације – glomerular filtration rate (GFR)**, која представља проток течности који се филтрира кроз гломеруларне капиларе у Боуманову капсулу у јединици времена [1]. Волумен плазме који се очисти од неке супстанце у јединици времена представља клиренс те супстанце.

Јачина гломерулске филтрације неке супстанце је једнака клиренсу те супстанце, ако се иста само филтрира кроз бубреге, а не подлијеже реапсорпцији или секрецији на нивоу тубула. На основу овога принципа, једначина за израчунавање *GFR* неке супстанце гласи:

$$\text{Јачина гломерулске филтрације} = \frac{\text{концентрација супстанце у урину} \times \text{проток урина}}{\text{концентрација супстанце у плазми}}$$

За процјену *GFR* у клиничкој пракси се најчешће користи **клиренс креатинина**, који представља волумен плазме који се очисти од креатинина у јединици времена [2]. Јачина гломерулске филтрације и клиренс креатинина се могу тачно израчунати на основу анализа из крви и урина или процијентити на основу одговарајућих формула.

Постоји неколико формула за процјену јачине гломерулске филтрације. У клиничкој пракси најчешће се користе следеће:

- **Cockcroft-Gault Formula** [3] – користи се за процјену клиренса креатинина на основу измјерене вриједности креатинина у серуму, укључујући тјелесну тежину, године, пол и расу.

$$\text{Клиренс креатинина} = \frac{(140 - \text{године}) \times \text{тежина (kg)}}{\text{креатинин у серуму (mg/dl)} \times 72} \times 0.85 \quad (\text{за женски пол})$$

Кориштење ове формуле се више не препоручује за клиничку употребу, с обзиром да процијењени клиренс креатинина који се добије овом формулом прецјењује актуелну бубрежну функцију, што би могло довести до ординирања и већих доза лијекова [4].

- **Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Formula** – користи се за процјену гломерулске филтрације на основу измјереног креатинина у серуму. У клиничкој пракси се најчешће користи ова формула, коју је развила Студијска група за модификацију дијете у бубрежној болести [5]:

$$\text{eGFR} = 32788 \times \text{серумски креатинин}^{-1,154} \times \text{године}^{-0,203} \times [1,210 \text{ код црне расе}] \times [0,742 \text{ код жена}]$$

Наведена *MDRD* формула користи 4 варијабле: серумски креатинин, године, етничку припадност и пол [6]. Оригинална формула садржи још двије додатне варијабле: вриједности урее и албумина у крви [5].

$$\text{eGFR} = 170 \times \text{серумски креатинин}^{-0,999} \times \text{године}^{-0,176} \times [1,180 \text{ код црне расе}] \times [0,762 \text{ код жена}] \times \text{уреа}^{-0,170} \times \text{албумин}^{+0,318}$$

MDRD формула је валидна када су у питању пацијенти са хроничном болешћу бубрега, али потцјењује гломерулску филтрацију код здравих пацијената

са гломерулском филтрацијом преко 60 ml/min [7,8]. Обзиром да ове формуле не укључују тјелесну масу, оне потцјењују процијењену гломерулску филтрацију за особе са вишом, а прецјењују за особе са нижим тјелесном масом.

● **CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) equation** [9]

– слична *MDRD* формули, али коригована ради примјене у различитим клиничким стањима.

$$\text{GFR} = 141 \times \min(S_{cr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(S_{cr}/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{Age}} \times 1.018 [\text{женски пол}] \times 1.159 [\text{за црну расу}]$$

S_{cr} – серумски креатинин (mg/dL)

$\kappa = 0.7$ за жене и 0.9 за мушкарце

$\alpha = -0.329$ за жене и -0.411 за мушкарце

min представља минимум S_{cr}/κ или 1, и

max представља максимум S_{cr}/κ или 1.

MDRD формула и *CKD-EPI* формула су прецизније у процјени клиренса креатинина у односу на *Cockcroft-Gault* формулу. *CKD-EPI* формула је прецизнија од *MDRD* формуле за процјену клиренса креатинина за вриједности $>60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ [10].

1.2. ФИЗИОЛОГИЈА ОСОВИНЕ "БУБРЕГ – КОСТ – ПАРАТИРЕОИДНА ЖЛИЈЕЗДА"

1.2.1. Метаболизам калцијума и фосфата

Калцијум (Ca) је минерал који учествује у бројним физиолошким функцијама организма, укључујући процес сигнализације нервних и ендотелних ћелија, процес мишићне контракције, коагулације крви и налази се у укупној количини од 1000 g код одраслих [11]. Дневне потребе организма за калцијумом износе од 1000 до 1500 mg дневно, зависно од старосне доби [12]. Више од 99% укупног калцијума у организму се налази у костима у облику калцијум-фосфат комплекса, највише хидрокси-апатита [13]. Нормалне вриједности калцијума у серуму износе 2,2-2,6 mmol/l. Баланс калцијума у организму зависи од дневног уноса и апсорпције калцијума из гастроинтестиналног тракта (ГИТ), као и реапсорпције у тубулима бубрега и ресорпције из костију. При нормалном дневном уносу калцијума, највећи дио транспорта је активан и зависан од дјеловања 1,25-дихидрокси-витамина D , а мањи дио апсорпције (8-23%) је резултат пасивног транспорта (дифузије) [14].

Хомеостаза калцијума почива на негативној повратној спрези, у којој хипокалцијемија (снижена вриједност јонизованог калцијума у серуму) узрокује инактивацију калцијумских рецептора у паратиреоидним жлијездама и повећану секрецију паратиреоидног хормона (*parathyroid hormone, PTH*), који преко својих рецептора у бубрезима и костима доводи до повећања серумског калцијума. Повећана секреција PTH условљава и активацију 1,25-дихидрокси-витамина D у бубрезима, који на нивоу ГИТ-а стимулише апсорпцију калцијума, те тако додатно повећава концентрацију калцијума у серуму [15].

Фосфат (P) је минерал неопходан за стварање аденозин-трифосфата, синтезу фосфолипида и нуклеинских киселина, ћелијску сигнализацију и одржавање вриједности pH и, слично калцијуму, око 85% укупног фосфата у организму смјештено је у костима, углавном у облику хидрокси-апатита [16]. Нормалне вриједности фосфата у серуму износе 0,8-1,4 mmol/l. Просјечан дневни унос фосфата је око 1500 mg, од чега се у ГИТ-у апсорбује 800 mg дневно [17]. Апсорпција се одвија у танком цријеву пасивном дифузијом и активним

транспортом (зависним од натријума) [18]. Баланс фосфата у организму зависи од уноса путем ГИТ-а, излучивања урином и коштаног метаболизма.

За хомеостазу фосфата задужена су следећа четири регулаторна механизма [19]: 1) унос и апсорпција фосфата из ГИТ-а, 2) 1,25-дихидрокси-витамин *D* (калцитриол), који повећава апсорпцију фосфата из ГИТ-а и костију, 3) *PTH*, који директно утиче на ресорпцију фосфата из костију и смањење реапсорпције из проксималног тубула, али и индиректно преко стимулације продукције калцитриола, 4) фибробластни фактор раста 23 (*fibroblast growth factor 23* – *FGF23*).

Хипофосфатемија утиче на смањење секреције *FGF23* од стране остеоцита, што индукује повећану експресију натријум-фосфатних транспортера у реналним тубулима (*sodium-phosphate solute carrier*, познати и као *NaPi II*) са посљедичним повећањем реапсорпције фосфата [18], као и повећану секрецију калцитриола са повећањем апсорпције фосфата из ГИТ-а [11]. За разлику од наведене негативне повратне спреге, на хомеостазу фосфата утичу и калцијумом индуковане промјене у секрецији *PTH* хормона преко дејства на *NaPi II* транспортере у реналним тубулима истим дејством као и *FGF23*, али са супротним ефектом на секрецију калцитриола од ефекта *FGF23* [11]. *PTH*, дакле, врши деградацију *NaPi II* транспортера у проксималним тубулима бубрега, те на тај начин, инхибише реапсорпцију фосфата [20].

Закључно, за баланс фосфата потребна је пажљива регулација натријум-фосфатних транспортера (*sodium-phosphate solute carrier*, познати и као *NaPi*) на нивоу дигестивног тракта (*NaPi IIb*) и бубрега (*NaPi IIa*, *NaPi IIc*), *SLC (solute carrier) 34* транспортне фамилије (тј. *NaPi II*), као и *SLC (solute carrier) 20* (тј. *NaPi III*) транспортера који врши сигнализацију фосфата у остеобластима, глатким мишићним ћелијама и проксималним тубулима бубрега [18]. Витамин *D* и смањен унос фосфата индукују повећану експресију натријум-фосфатних транспортера. Студије су показале да смањена експресија *NaPi IIb* транспортера у танком цријеву доводи до посљедичне појачане експресије *NaPi IIa* у проксималним тубулима бубрега, како би се одржала нормална серумска концентрација фосфата [21].

1.2.2. Витамин D

Витамин D је липосолубилни витамин, односно хормон неопходан за одржавање хомеостазе калцијума, фосфата и коштаног метаболизма [22]. Поред улоге у метаболизму калцијума, витамин D стимулише апсорпцију фосфата из ГИТ-а и смањење излучивања фосфата урином. Препоручује се дневни унос витамина D од 600 IU (15 μ g) дневно за дјецу, труднице, дојиље и одрасле до 70 година старости, а за старије од 70 година 600-800 IU (20 μ g) дневно [23].

Холекалциферол (витамин D₃) се синтетише у кожи из 7-дехидрохолестерола под дејством UV-зрака, али се може и унијети путем хране животињског поријекла (жумањак, риба, млијеко и млијечни производи). Ергокалциферол (витамин D₂) се налази у намирницама биљног поријекла. Холекалциферол и ергокалциферол у јетри подлијежу хидроксилацији, гдје након дејства ензима 25-хидроксилaze настаје калцидиол (25-хидрокси-витамин D, 25-OH-витамин D). Друга хидроксилација одвија се у бубрезима, гдје као резултат дјеловања 1- α -хидроксилaze (CYP27B1) настаје активни облик витамина D, тј. 1,25-дихидрокси-витамин D (1,25-(OH)₂-витамин D). Активни облик витамина D учествује у метаболизму калцијума путем повећања његове апсорпције из ГИТ-а, ослобађања из костију (ресорпција кости) и смањењем излучивања калцијума путем урина. У бубрезима, највећу активност 1- α -хидроксилaze испољава у дисталном тубулу [24]. Осим у бубрезима, овај ензим је активан и у ГИТ-у, остеобластима и остеокластима, кожи, васкуларном ткиву и епителним ћелијама дојке [25].

Регулација активности 1- α -хидроксилaze резултат је дејства концентрације калцијума и фосфата у серуму, PTH и фибробластног фактора раста 23 (*eng. Fibroblast growth factor 23, FGF23*). PTH стимулише синтезу 1,25-дихидрокси-витамина D [26], који се везује за свој рецептор на паратиреоидним ћелијама и инхибише синтезу и секрецију PTH. FGF23 инхибише реналну продукцију 1,25-дихидрокси-витамина D путем инхибиције 1- α -хидроксилaze у проксималним тубулима и активације 24- α -хидроксилaze, чијим дејством настаје инактивни метаболит витамина D (24,25-дихидрокси-витамин D) [27]. 1,25-дихидрокси-витамин D врши сопствену контролу регулације преко повећања активности гена за 24- α -хидроксилазу, која врши деградацију калцитриола, али и калцидиола [28].

1.2.3. Алкална фосфатаза и коштана алкална фосфатаза

Алкална фосфатаза (*eng. alkaline phosphatase, ALP*) је ектоензим везан за ћелијску мембрану гликофосфатидил-инозитолом, чија улога је вршење хидролизе монофосфатних естера при високом pH [29]. Постоје 4 типа *ALP*: ткивно-неспецифична (јетра, кост, бубрег), интестинална, плацентна и герминативних ћелија [30]. Овај ензим испољава своју активност на четкастој површини проксималног извијуганог тубула бубрега, епителним ћелијама интестиналне мукозе, хепатичним синусоидним мембранама, васкуларним ендотелним ћелијама и остеобластима [31]. *ALP* се налази у плазма мембрани остеобласта и остеоцита са каталитичком јединицом која је споља оријентисана и која цијепа фосфор из бета-глицерол фосфата, омогућујући да фосфор уђе у ћелију путем натријум-зависног фосфатног транспортера и остане у ћелији унутар уског концентрационог распона [21].

Ткивно-неспецифична *ALP* је неопходна за хидролизу неорганског пирофосфата (инхибитора минерализације), како би се обезбиједио неоргански фосфат потребан за кристализацију хидрокси-апатита, те одвила нормална минерализација кости [32]. Експресију ткивно-неспецифичне *ALP* помажу фосфат и калцитриол [33]. Осим у костима, могућа је и ванкоштана (патолошка) минерализација у неким ткивима: бубрег, крвни судови и зглобна хрскавица [34]. Код уремијских пацова је показана повећана активност ткивно-неспецифичне *ALP* [35].

Физиолошки процес минерализације подразумијева одлагање кристала хидрокси-апатита (калцијум-фосфат) у чврста ткива: кост, дентин и епифизне плоче [36]. За минерализацију костију задужени су остеобласти, поредани дуж остеоида, који стварају хидрокси-апатит [37]. Процес минерализације започиње стварањем кристала хидрокси-апатита у матрикс везикулама (величине 50-200 nm), које се одвајају пупљењем од остеобласта [36]. Ткивно-неспецифична *ALP* је потребна за продужење кристала хидрокси-апатита. Калцијум улази у везикуле кроз калцијумске канале изграђене од аксина [38], док је фосфат обезбијеђен путем $NaPi$ котранспортера типа III. [39] Кристали хидрокси-апатита потом прелазе у екстрацелуларну течност и попуњавају простор између колагених

фрибрила [37]. Неоргански пиропфосфат (*eng. inorganic pyrophosphate, PPi*), који инхибише формацију хидрокси-апатита, је хидролизован од стране ткивно-неспецифичне *ALP* [37].

Коштана алкална фосфатаза (*Bone specific alkaline phosphatase, BALP*) чини око 50% укупне циркулишуће алкалне фосфатазе, а овај изоензим је повишен као резултат појачане остеобластне активности [31]. Постоји више изоформи *BALP*: *B/I* (мања фракција која се састоји од 70% коштане *ALP* и 30% интестиналне *ALP*), *B1* (већа активност у кортикалној кости), *B1x* (код болесника са ХББ), *B2* (већа активност у трабекуларној кости) [40].

1.2.4. Паратиреоидни хормон

Поред витамина *D*, за одржавање равнотеже метаболизма калцијума и фосфата задужен је и паратиреоидни хормон (*eng. parathyroid hormone, PTH*) [41]. *PTH* је полипептид сачињен из 115 аминокиселина (пре-про-*PTH*), који се у паратиреоидним ћелијама претходно цијепа на про-*PTH*, који има 90 аминокиселина, а потом на *PTH* који се сачињен од 84 аминокиселине [42].

Стимулус за синтезу и секрецију *PTH* је низак ниво јонизујућег калцијума. Хипокалцијемија активира калцијум-сензинг рецептор на површини паратиреоидне ћелије (*eng. Calcium-sensing receptor, CaSR*) [43], чиме престаје инхибиција синтезе и секреције *PTH*. Овај процес се одвија веома брзо. Према процјенама, за биосинтезу *PTH* је потребно мање од сат времена [42], а за ослобађање *PTH 1-84* (интактни *PTH*) егзоцитозом неколико секунди [44]. Како би остварио своје дејство, *PTH* се везује за свој рецептор у циљним ткивима.

Интактни *PTH* се везује за *PTH1R* (*PTH/PTH-related protein receptor*) који се налази експримиран највише у бубрезима и костима, али и крвним судовима, срцу, кожи, итд [45]. Осим интактног *PTH*, за овај рецептор се веже и *N*-терминални фрагмент *PTH* (1-34) [42]. Поред *PTH1R*, постоји још и *PTH2R* експримиран у кардиоваскуларном, централном нервном, гастроинтестиналном

систему, плућима и тестисима [45], као и у скорије вријеме откривен *C-PTHrP*, који везује карбокси-теминални регион *PTH* (7-84), експримиран највише у костима [46].

За регулацију хомеостазе калцијума, најзначајније је дејство *PTH* на *PTH1R*. Након хипокалцијемijом индуковане синтезе и секреције, *PTH* се везује за *PTH1R* у костима (остеобласти) и бубрезима (ћелије дисталног тубула), што резултира повећаном ресорпцијом кости и ослобађањем калцијума из костију и повећањем реасорпције калцијума у бубрезима, послjе чега се повећава серумска концентрација калцијума. *PTH* има и индиректни, хиперкалцијемijски ефекат преко витамина *D*. У тубулским ћелијама, *PTH* стимулише конверзију калцидиола у калцитриол (путем стимулације синтезе 1- α -хидроксилазе), који потом стимулише апсорпцију калцијума из ГИТ-а [42].

На паратиреоидним ћелијама се налази и витамин *D* рецептор. Везујући се за свој рецептор, калцитриол инхибише синтезу *PTH* [47]. За разлику од калцитриола, хиперфосфатемија стимулише синтезу и секрецију *PTH* [48].

1.2.5. Фибробластни фактор раста 23

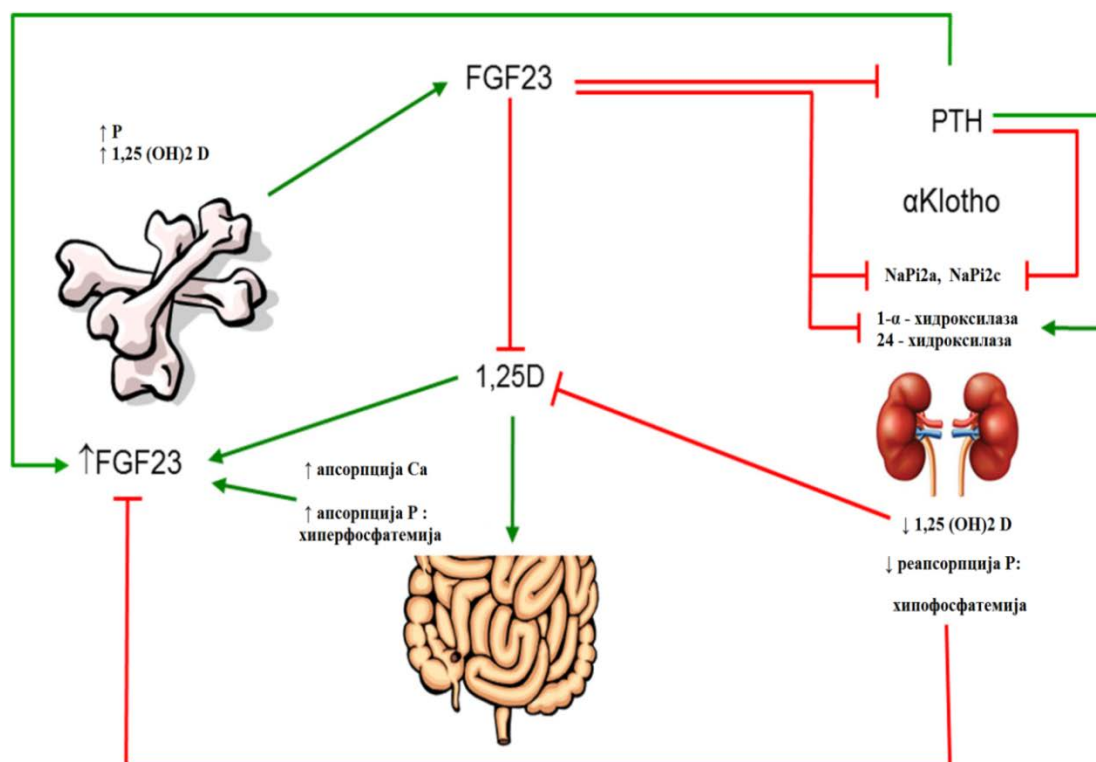
Фибробластни фактор раста 23 (*eng. fibroblast growth factor 23, FGF23*) је гликопротеин изграђен од 251 аминокиселине, молекуларне масе 32 *kDa*, који се *N* – терминалним дијелом веже за свој рецептор у ткивима, а *C* – терминалним дијелом за трансмембрански протеин Клото (*eng. Klotho*) и тако испољава своју хормонску активност, која у физиолошким условима подразумијева одржавање баланса фосфата [49,21].

Клото има молекуларну масу од 130 *kDa*, 1014 аминокиселина и налази се експримиран у дисталним тубулима бубрега, паратиреоидним жлијездама, питуитарној жлијезди и хороидном плексусу [50]. Осим мембранског облика, Клото се налази и у циркулишућој форми (солубилни или α -Клото) у крви, урину и цереброспиналној течности, гдје учествује у инхибицији *Wingless-type MMTV – mouse mammary tumor virus (Wnt)* сигналног пута, повећању производње ендотелног азотног оксида, резистенцији на липидну пероксидазу, енергетском

метаболизму и модулацији јонског транспорта, као и метаболизму *PTH* и витамина *D* [51]. Овај корецептор повећава афинитет *FGF23* за везивање са својим рецептором (*eng. fibroblast growth factor receptor, FGFR*) [52].

FGF23 секретују остеоцити. На тај начин су кости, постале не само циљни орган, него и активни ендокрини орган који учествује у регулацији метаболизма минерала [53]. Синтезу *FGF23* стимулишу калцијум, фосфат, витамин *D*, *PTH*, док гликофосфопротеини синтетисани од стране остеоцита (*Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein, MEPE, Dentin Matrix Protein 1, DMP 1*) инхибишу његову секрецију [54]. Ниво *FGF23* присутног у циркулацији резултат је превасходно остеоцитне експресије из костију [55].

Иако су *FGF23* рецептори убиквитарно распоређени, примарну улогу *FGF23* остварује нисходним ефектима локализованим на бубрег, паратиреоидне и питуитарну жлијезду (Слика 1).



Слика 1. Ефекти фибробластног фактора раста 23

[Модификовано према референци 56]

У физиолошким условима, најзначајнију улогу *FGF23* испољава у бубрезима и паратиреоидим жлијездама, везујући се за *FGFR1*-Клото комплекс [57]. *FGF23*

утичући на реналне проксималне тубулске епителне ћелије, врши нисходну регулацију активности типа II натријум-фосфат котранспортера (*NaPi IIa* и *NaPi IIc*), спречавајући реапсорпцију фосфата од стране тубула [58,59]. Такође, *FGF23* супримира реналну експресију 1-алфа-хидроксилазе (*CYP27B1*), спречавајући продукцију 1,25 хидрокси-витамина *D* од стране бубрега, те повећава активацију 24-хидроксилазу (*CYP24A1*), ензим који је задужен за катаболизам 1,25 хидрокси-витамина *D* [60]. Крајњи резултат је повећана фосфатурија и смањење бубрежне активације витамина *D*, што има за циљ регулацију серумског нивоа фосфата.

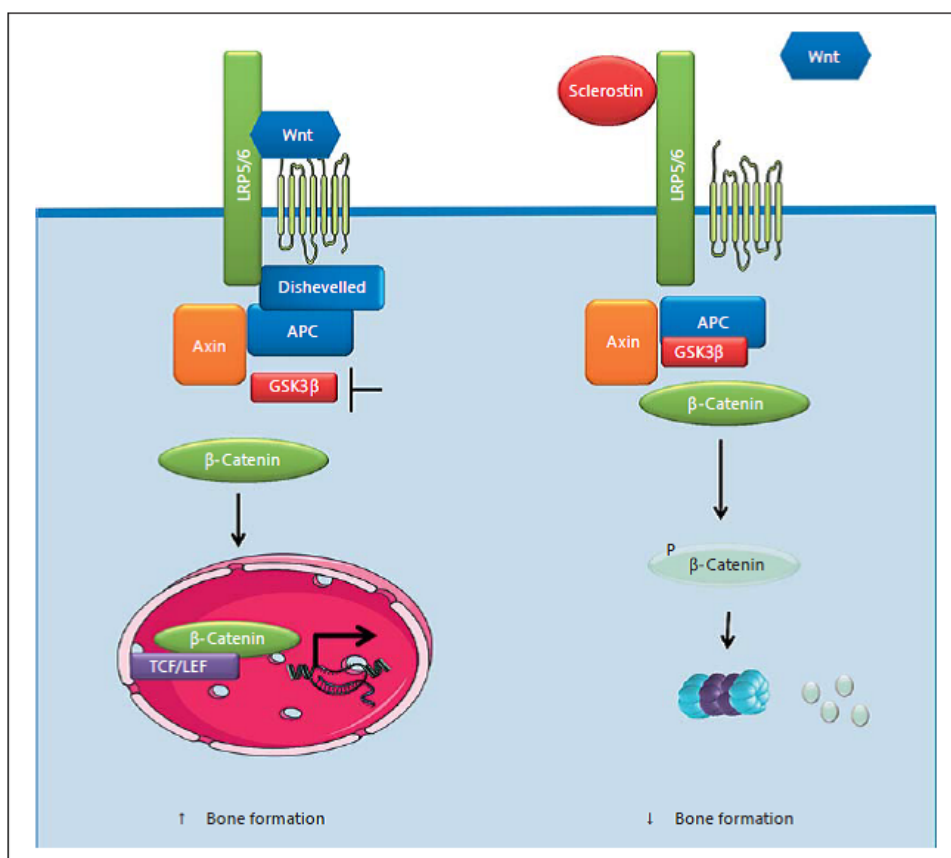
Осим у метаболизму фосфата, *FGF23* утиче и на регулацију других електролита. Наиме, *FGF23* стимулише реапсорпцију калцијума у дисталним тубулима бубрега преко *Transient receptor potential cation channel subfamily V member 5 (TRPV5)* рецептора [61]. Такође, *FGF23* регулише и реапсорпцију натријума у дисталним тубулима и утиче на волумен плазме, што би могло допринијети развоју кардиоваскуларног ризика код пацијената са ХББ [62]. У паратиреоидној жлијезди, *FGF23* инхибише секрецију *PTH*, док вишак *PTH* инхибише продукцију *FGF23* у костима како би се одржала равнотежа у физиолошким условима [63].

У свим претходно наведеним метаболичким процесима, *FGF23* за своје дјеловање захтијева присуство Клота. Када су у питању крвни судови, досадашња истраживања о присуству Клота у васкуларном ткиву су опречна. Новије студије су показале да се *FGFR1* и *FGFR3* рецептори налазе и у васкуларном ткиву (*tunica intima*, *tunica media*), као и у калцификованим плаковима, те да васкуларна експресија *FGF23* корелира са опадањем бубрежне функције [64]. У студији коју су спровели *Van Venrooij* и сарадници, *FGF23* је детектован у пјенастим макрофагима, на основу чега је закључено да васкуларна експресија *FGF23* управо зависи од инфилтрације макрофагима. Такође, наведена студија није показала повезаност између системске инфламације, изражене кроз ниво *C*-реактивног протеина (*CRP*) и имунореактивности *FGF23* у коронарним артеријама, те је закључено да је коронарна експресија *FGF23* резултат процеса локалне инфламације. Важно је нагласити да су ови аутори доказали присуство и протеина и *mRNA* од *FGF23* и Клота, што имплицира да су они синтетисани у калцификованим плаковима, те да нису заробљени из циркулације.

1.2.6. Склеростин

"Wnt" (*Wingless-type MMTV – mouse mammary tumor virus*) сигнални пут се састоји из велике породице секретованих гликопротеина који су окидачи многобројне сигналне каскаде неопходне за ембиогени развој и регенерацију ткива [65]. Овај сигнални пут је значајан за правилно одвијање бројних биолошких процеса, прије свега, процеса ћелијске пролиферације, диференцијације и миграције [66].

Wnt- β -катенински пут представља предоминантну компоненту "Wnt" сигнализације са темељним ефектом на скелет [67]. Овај пут започиње везивањем *Wnt* лиганда за рецептор који се састоји из *FZD* (*frizzled*) протеина и *LRP 5/6* протеина (*low-density lipoprotein receptor-related protein*), резултирајући ослобађањем β -катенина који се накопља у цитоплазми и транслоцира у једро (Слика 2), гдје је повезан са транскрипционим факторима како би учествовао у контроли транскрипције циљних гена [65].



Слика 2. *Wnt*- β -катенински пут и улога склеростина као инхибитора овог пута [68]

Насупрот *Wnt* сигналном путу који врши стабилизацију β -катенина, β -катенински деградациони комплекс врши фосфорилацију β -катенина који постаје подложен протеолизи, те као такав не може се транслоцирати у једро и регулисати транскрипцију гена [69].

Wnt учествују у повећању остеобластогенезе и смањењу остеокластогенезе, што резултира појачањем формирања кости и смањењем коштане ресорпције [70]. Мутације "губитка функције" у *LRP 5/6* протеину смањују минералну коштану густину, док мутације "добитка функције" повећавају минералну коштану густину [65]. Познато је да особе са *LRP 6* мутацијама развијају рану коронарну болест, што потврђује да *Wnt* сигнални пут учествује у регулацији осовине кост-крвни судови [71,72]. Поремећај ове осовине доводи до деминерализације костију и васкуларних калцификација, познат под називом **коштано-васкуларни калцификациони парадокс** [72].

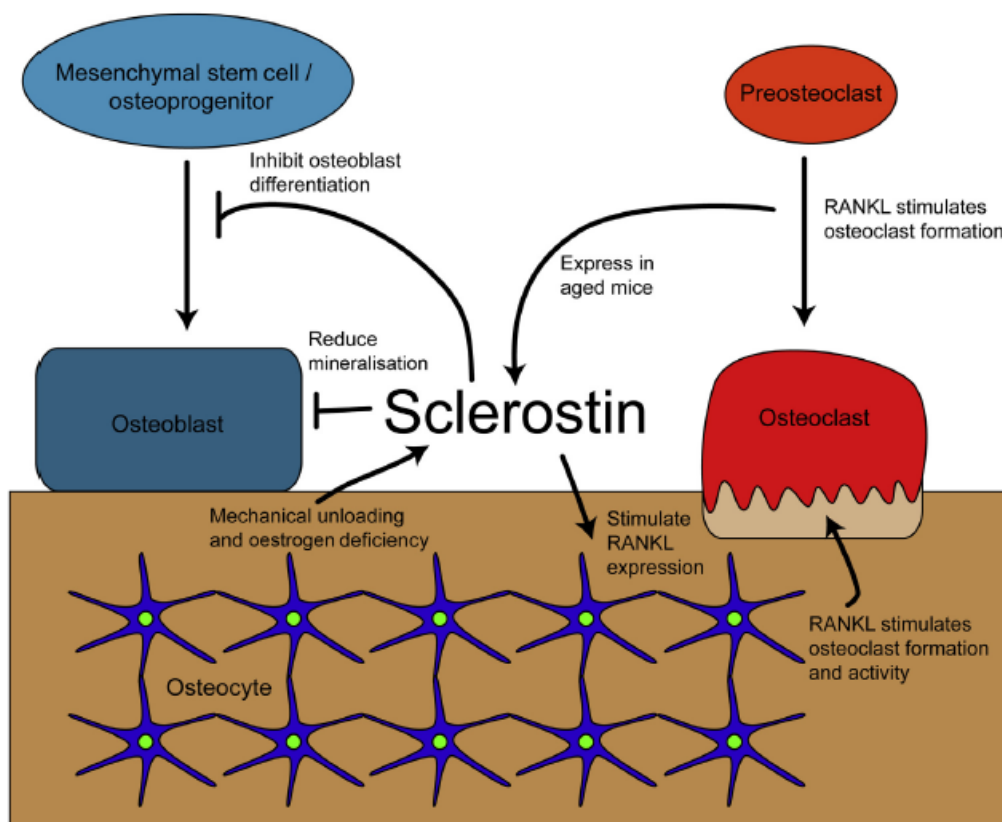
На регулацију *Wnt*- β -катенинског пута утиче неколико антагониста који се вежу директно и блокирају *Wnt* лиганде (нпр. *FZD (frizzled)* протеин) или везују *LRP 5/6* протеин (нпр. склеростин) [65].

Склеростин, гликопротеин сачињен од 213 аминокиселина, молекуларне масе 22 *kDa*, продукт је *SOST* гена лоцираног на хромозому 17 [73]. Овај гликопротеин је експримиран на пупољцима екстремитета за вријеме ембриогенезе, а постнатално на скелету унутар остеоцита [70].

Везујући се за *LRP 5/6* протеин, склеростин инхибише *Wnt*- β -катенински пут, те тако учествује на одржавање равнотеже коштаног метаболизма. Са друге стране, *PTH/PTHrP* рецепторски комплекс се веже за *LRP6* и врши његову фосфорилацију, утичући на стабилизацију β -катенина [74]. Склеростин учествује и у регулацији остеопротегерин-*RANK-RANKL* регулаторног система [72]. Наиме, *Wnt* сигнални пут је стимулатор остеопротегерина, који инхибише *RANKL (receptor activator of nuclear factor κ B-ligand)* експримиран од стране остеобласта, те на тај начин, спречава диференцијацију остеокластних прекурсора [75].

Досадашње студије су доказале продукцију склеростина од стране остеоцита. Међутим, само зрели остеоцити, када су уграђени у минерализовани

матрикс, секретују склеростин како би се ограничило даље формирање кости од стране остеобласта [76].



Слика 3. Улога склеростина у метаболизму кости [77]

Иако је склеростин означен као протеин специфичан за остеоцитну продукцију, новија истраживања су показала да и ћелије других ткива могу експримирати *SOST* и продуковати склеростин, као нпр. бубрега, срца, крвних судова, јетре и хрскавице [78]. Експресија *SOST* гена је потврђена у васкуларним глатко-мишићним ћелијама које су култивисане у медијуму који индукује калцификације [79].

На регулацију експресије *SOST* гена утиче унос фосфата исхраном. Експерименталне студије су показале да исхрана пацова са 1,2% садржајем фосфора значајно стимулише експресију *SOST* гена у ткиву тибије (уз мању густину кости), као и ниво серумског склеростина у односу на исхрану са мањим садржајем фосфора (0,6%) [80]. Аналогно експерименталним студијама, поједине клиничке студије су пронашле значајну позитивну повезаност између концентрација серумског фосфата, *FGF-23* и склеростина [81], на основу чега су

поједини аутори закључили да је један од могућих разлога повећања серумског склеростина његова повећана продукција као последица поремећаја метаболизма фосфата [82].

Поједини аутори су објавили са је старија животна доб повезана са повећањем серумског нивоа склеростина [83]. Интересантно је поменути да је студија о биопсији кости показала да повећање нивоа циркулишућег склеростина код старијих особа није било праћено повећањем склеростинске *mRNA* у костима, што имплицира да постоји допринос у повећању нивоа склеростина из екстраскелеталних извора, укључујући и крвне судове [84].

1.2.7. Физиологија коштаног ремоделовања

Ремоделовање кости је балансиран активни процес, који подразумева уклањање старе и стварање нове кости. Овај процес започиње активацијом остеокласта који врше коштану разградњу, наставља се стварањем протеинског матрикса и завршава његовом минерализацијом, што чини новоизграђену кост [85]. Балансирано ремоделовање кости обезбјеђује хомеостазу минерала у организму [86].

Ресорпција кости почиње помијерањем дјелимично диферентованих моноуклеарних преостеокласта (поријекла хематопоетских матичних ћелија) на површину кости, гдје сачињавају мултиједарне остеокласте који синтетишу и ослобађају лизозомалне ензиме како би се разградили коштани минерали и колагени фрагменти [85]. У даљем току моноклеарне ћелије помажу новим остеобластима да адхерирају на ресорбовану површину, при чему кључни протеин је највјероватније остеопонтин [85]. Остеобласти синтетишу колагени органски матрикс, кога чине тип 1 колагена влакна, остеокалцин и други протеини, те ослобађају матриксне везикуле богате калцијумом и фосфатом, који врше минерализацију створенога остеоида [87]. Такође, остеобласти ослобађају ензиме који блокирају инхибиторе минерализације (пирофосфат, протеоглигани) [88]. Активност остеобласта одражавају серумске вриједности коштаноспецифичне алкалне фосфатазе и остеокалцина [89].

За нормално ремоделовање кости неопходна је међусобна интеракција између остеобласта, остеокласта, остеокита и коштаног матрикса. Остеобласти испољавају своје дјеловање на остеокласте путем ***RANK/RANKL/OPG*** (*receptor activator of nuclear factor kappa B / receptor activator of nuclear factor kappa B ligand / osteoprotegerin*) система. Остеобласти стварају *RANKL* протеин који се везује за тип 1 мембрански протеин (*RANK*) лоциран на површини остеокласта, вршећи диференцијацију и активацију остеокласта [90]. Остеопротегерин, кога такође стварају остеобласти, инхибише везивања *RANKL* за *RANK*, како би се спријечила прекомијерна ресорпција кости [90]. Са друге стране, остеокласти врше супресију диференцијације остеобласта путем новооткривеног *Semaphorin* (*Sema4D*) сигналног пута [91].

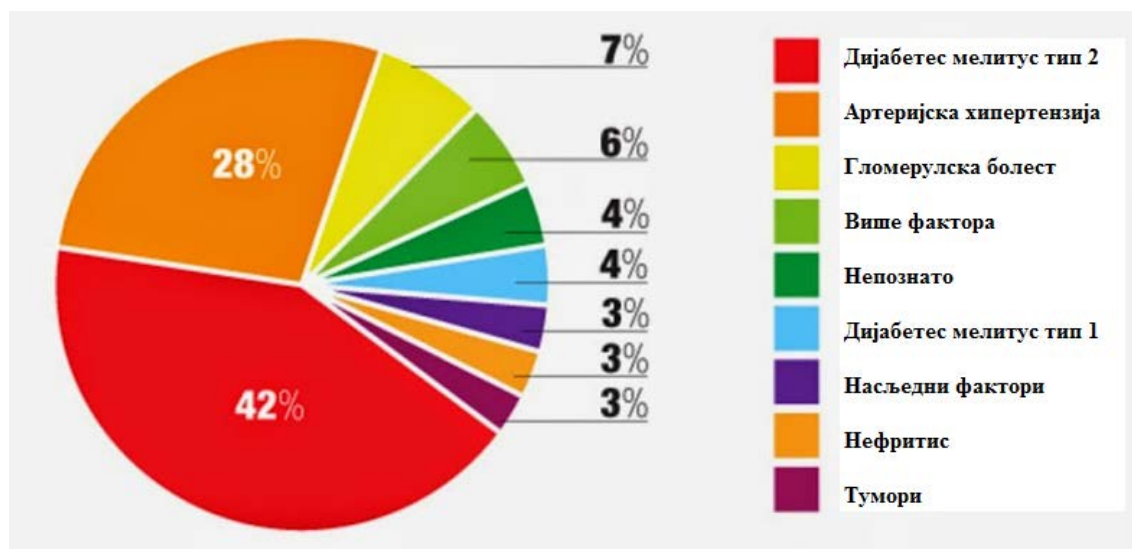
Wnt сигнални пут учествује у изградњи кости. Остеоцити, стварајући склеростин и *Dickkopf-related protein-1* (*DKK-1*), врше инхибицију диференцијације и матурације остеобласта путем инхибиције овог сигналног пута [92]. Коштани матрикс, за вријеме трајања ресорпције кости, секретује *transforming growth factor-β1* (*TGF-β1*) и *insulin-like growth factor-1* (*IGF-1*), утичући на миграцију мезенхималних матичних ћелија коштане сржи, које потом формирају преостеобласте [93]. Код одраслих процес ремоделовања кости подразумева континуирани дневни "проток" калцијума (~ 300 mg) и фосфата (~ 500 mg) унутар и изван коштане масе [94].

1.3. Хронична бубрежна болест

1.3.1. Дефиниција и стадијуми хроничне бубрежне болести

Хронична бубрежна болест (ХББ) представља све већи проблем популације цијелога свијета. Прогресивног је тока са иреверзибилним промјенама и многобројним компликацијама, због чега ју је потребно на вријеме дијагностиковати и правовремено и адекватно лијечити.

Већа инциденца традиционалних фактора ризика, као што су старија животна доб, артеријска хипертензија, дислипидемија и дијабетес мелитус уз факторе ризике специфичне за ХББ (албуминурија, анемија, поремећај метаболизма калцијума и фосфата, оптерећење волуменом екстрацелуларне течности), могу дјелимично објаснити велику преваленцу кардиоваскуларне болести код пацијената обољелих од ХББ [95]. Најчешћи узроци ХББ приказани су на Слици 4.



Слика 4: Фактори који доводе до хроничне болести бубрега према подацима Свјетске Здравствене Организације [96]

Према смјерницама Међународног удружења нефролога (*Kidney disease improving global outcomes - KDIGO*), хронична бубрежна болест се дефинише као абнормалност структуре или функције бубрега, која је присутна дуже од 3 мјесеца са утицајем на здравље, а класификује се на бази узрока, категорије гломерулске филтрације и категорије албуминурије (излучивања албумина у урину) [97].

У складу са препорукама Иницијативе за квалитет исхода болести бубрега Националне фондације за болести бубрега (*National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative – NKF KDOQI*), ХББ се према процијењеној јачини гломерулске филтрације класификује у следећих пет стадијума (Табела 1):

Табела 1: Стадијуми хроничне болести бубрега [98]

СТАДИЈУМ	ОПИС	<i>GFR</i> <i>ml/min/1,73 m²</i>
1	оштећење бубрега са нормалном или повишеном <i>GFR</i>	≥90
2	оштећење бубрега са благо сниженом <i>GFR</i>	60-89
3	умјерено снижена <i>GFR</i>	30-59
4	тешко снижена <i>GFR</i>	15-29
5	инсуфицијенција бубрега	≤15 или дијализа

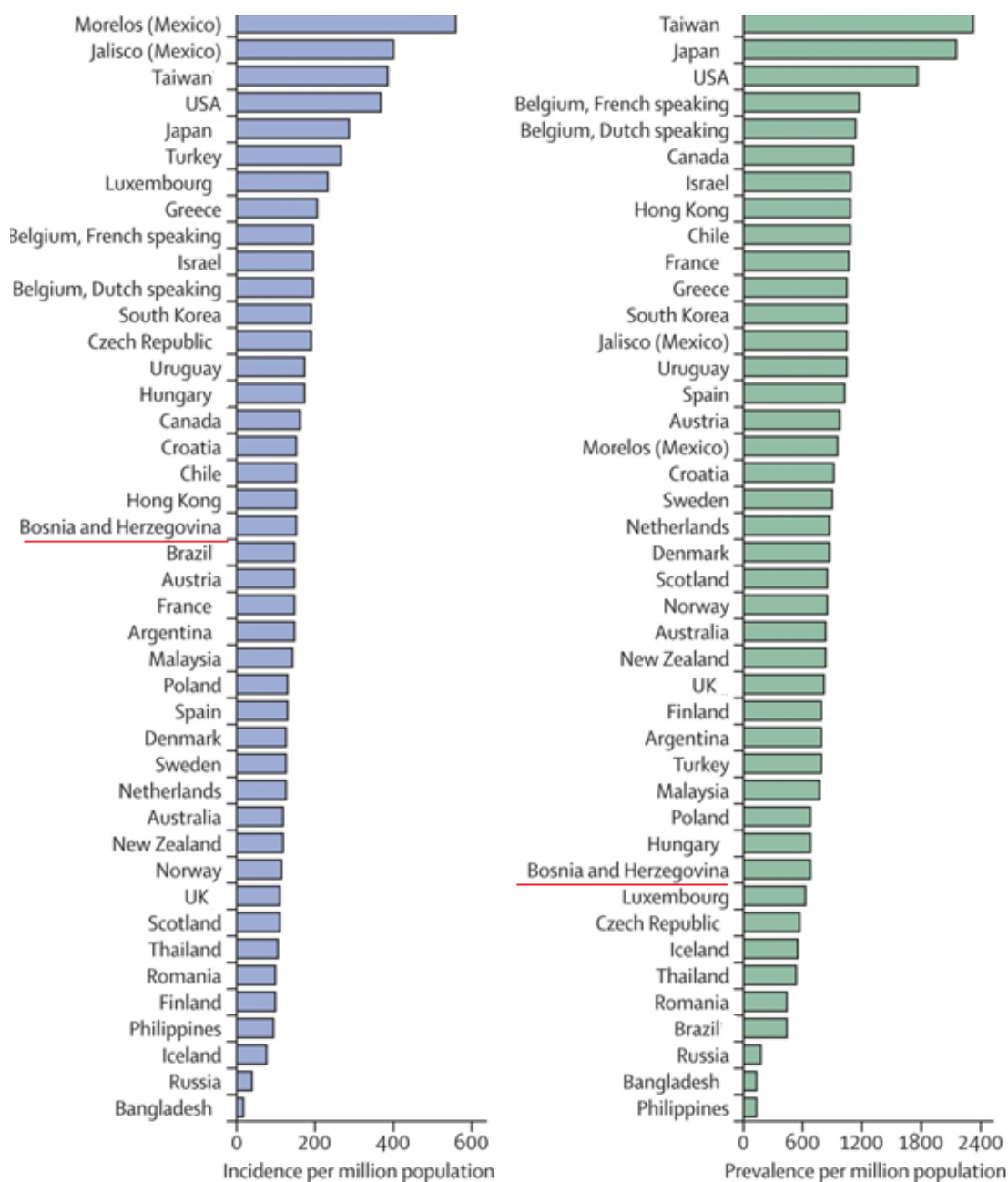
Легенда: *GFR* (*glomerular filtration rate*) – јачина гломерулске филтрације

Тријажа у циљу ране дијагностике ХББ треба да обухвати не само одређивање процијењене јачине гломерулске филтрације, него и мјерење протеинурије. На овај начин ће се поставити дијагноза болести код пацијената са стадијумом 1 и 2, што је значајно ако се има у виду чињеница да пацијенти са стадијумом 1 и 2 ХББ имају готово једнак ризик од развоја терминалне бубрежне слабости као и пацијенти са стадијумом 3, те једнак ризик од кардиоваскуларних догађаја [99].

1.3.2. Епидемиологија хроничне бубрежне болести

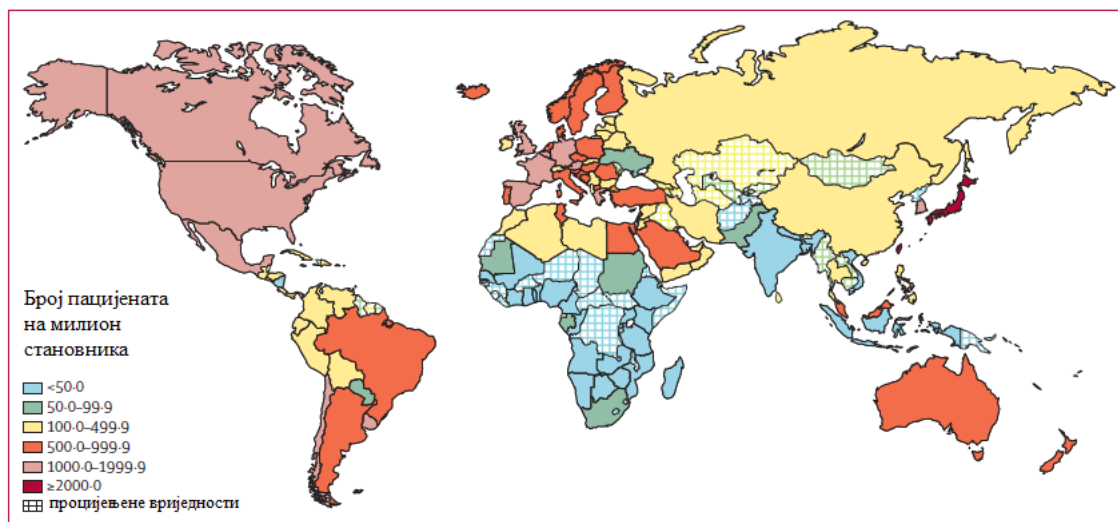
Према Анкети за испитивање националног здравља и исхране – *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)* спроведеној у Сједињеним Америчким Државама (САД) у периоду 1988-1994. године, преваленца перзистентне албуминурије, када је у питању популација САД-а износила је 3,3% одраслих са гломерулском филтрацијом ≥90 *ml/min/1,73m²* или 5,9 милиона и представља процијењену преваленцу стадијума 1 ХББ [100]. Преваленца перзистентне албуминурије код одраслих са гломерулском филтрацијом 60-89 *ml/min/1,73m²* износи 3,0% или 5,3 милиона и представља процијењену

преваленцу за стадијум 2 ХББ [100]. Битно је нагласити, да у ову студију нису укључени остали маркери бубрежног оштећења, као нпр. патолошки налаз седимента урина, те се процјењује да су наведене преваленце још и веће [100]. Преваленца стадијума 3 је била 4,3%, стадијума 4 је била 0,2 %, док је преваленца стадијума 5 износила 0,2% [101]. У наредној деценији (1994-2004 године) преваленца ХББ стадијума 1-4 се повећала са 10 на 13,1%, што се дијелом може објаснити повећањем преваленце хипертензије и дијабетеса [102].



Слика 5. Инциденца и преваленца терминалне бубрежне болести у 2012. години [103]

На Слици 5 и Слици 6 су приказани подаци за инциденцу и преваленцу терминалне бубрежне болести у свијету у 2012. и 2015. години.



Слика 6. Преваленца терминалне бубрежне болести у свијету у 2015. години [104]

Већина европских студија о преваленцији ХББ је базирано на одређивању процијеване јачине гломерулске филтрације, а само неке су укључиле одређивање албуминурије. Подаци из *PREVEND* (Холандија), *EPIRCE* (Шпанија) и *HUNT* (Норвешка) студија показују да је преваленца ХББ за стадијум 1 и 2 износила 5,1-7,0%, за стадијум 3 је била 4,5-5,3% и 0,1-0,4% за стадијум 4 ХББ [105-107]. *NATPOL 2011*, пољска национална опсервациона студија, је показала да преваленца ХББ у популацији од 18 до 79 година износи 5,8% [108]. У енглеској популацији, преваленција ХББ износи 4,3% [109]. Студија спроведена у Штокхолму је показала да је преваленца ХББ у одраслој популацији 6,11% [110].

Усклађивањем и анализом података добијених из студија које су проведене у Европи (19 студија у 13 европских земаља), према полу, добу и факторима ризика, прилагођена преваленца стадијума ХББ стадијума 3-5 варира од 1,0% до 5,9%, док за стадијуме 1-5 варира од 3,3% до 17,3% [111]. Варијације у преваленци ХББ у различитим европским земљама које су присутне након стратификације према факторима ризика, сугеришу да постоје популације са високим и ниским ризиком, те да је преваленца ХББ дијелом зависна од преваленце дијабетеса, хипертензије и гојазности у појединим популацијама [111]. Додатно, на преваленцу хроничне бубрежне слабости утичу још и други фактори: генетски фактори, тип исхране, физичка активност, итд.

Преваленца ХББ се разликује и у популацији азијских земаља. Епидемиолошка студија о ХББ у Индији је показала да преваленца ХББ свих стадијума болести износи 17,2%, односно око 6% за стадијуме 3-5 [112]. У Тајвану, преваленца ХББ за стадијуме 1-5 износи 11,9%, док за стадијуме 3-5 је 6,9% [113]. Преваленца ХББ зависи од старости популације која је укључена у студију. То потврђује и систематски преглед објављен од стране аутора *Zhang* и *Rothenbacher (2007)*, који су анализом 26 студија дошли до закључка да је преваленца ХББ у популацији пацијената доби 30 и више година 7,2%, односно 23,4-35,8% у популацији старијој од 64 године [114].

Број новообољелих становника од ХББ, али и прогресија стадијума болести код раније обољелих, се свакодневно повећава, па тако, инциденца терминалног стадијума ХББ за САД износи 300 на милион становника годишње, док је у земљама западне Европе 100-150 на милион становника годишње [115]. Повећање инциденце терминалног стадијума ХББ би се дијелимично могао објаснити смањењем кардиоваскуларног морталитета ових болесника у ранијим стадијумима болести захваљујући спроведеним мјерама превенције.

Када је у питању Босна и Херцеговина, број пацијената са терминалним стадијумом ХББ који захтијевају неки од модалитета замјене бубрежне функције је порастао са 1531 из 2002. године на 2206 пацијената у 2008. години, што је око 43% [116].

1.3.3. Клиничка слика и компликације хроничне бубрежне болести

Почетна ХББ најчешће протиче асимптоматски или се јављају неспецифични симптоми и знаци. Током прогресије, болесници могу осјетити појачано замарање изазвано анемијским синдромом, гастроинтестиналне сметње (губитак апетита, мучнину, повраћање, промјена конзистенције столице), као и дизуичне тегобе и смањену количину урина. Такође, симптоматологија и других органа и органских система може бити присутна (централног нервног система – несаница, конфузност, депресија, анксиозност; кома; кардиоваскуларног система – стенокардија, палпитације, хипертензија; респираторног система – диспнеја; свраб и сл.). Клинички манифестно обољење настаје при смањењу гломерулске

филтрације $< 30 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Код болесника са ХББ настају бројне компликације као последица следећих патофизиолошких механизма [117]:

- поремећај баланса воде и натријума $\rightarrow$ хипертензија, повећан интраваскуларни волумен, срчана инсуфицијенција, едеми
- поремећај баланса калијума $\rightarrow$ хиперкалијемија, срчане аритмије
- поремећај баланса фосфата $\rightarrow$ хиперфосфатемија
- поремећај излучивања азотних материја $\rightarrow$ уремија, која доводи до поремећаја имуног система, перикардитиса, поремећаја коагулације, кожних, гастроинтестиналних и неуролошких манифестација, те сексуалне дисфункције
- поремећај продукције еритропетина $\rightarrow$ анемија
- поремећај ацидо-базног баланса $\rightarrow$ ацидоза
- поремећај активације витамина $D \rightarrow$ хипокалцијемија и секундарни хиперпаратиеоидизам.

1.3.4. Терапијски модалитети

Рано откривање и правовремено лијечење узрока и компликација ХББ је основна одредница даљег тога обољења. Стављање под контролу узрока који је довео до бубрежне слабости, нпр. хипертензије, дијабетеса и сл. утиче на стабилност бубрежне функције и одлаже настанак терминалног стадијума болести. Такође, контрола протеинурије, анемије, спречавање инфекција, као и лијечење коморбидитета, доприносе одржавању стабилне бубрежне функције.

У лијечењу ових болесника, значајну улогу има супституциона витаминска терапија (витамини $B9$, $B12$, D), како би се надокнадила поремећена ендокрина улога бубрега. Имајући у виду и поремећај екскреторне функције бубрега, од великог значаја у лијечењу ових болесника представља бубрежна дијета, која подразумијева ограничен унос намирница богатих протеинима, минералима (прије свега калијумом, фосфатом и калцијумом), као и ограничен унос соли. Уколико дође до прогресије ка терминалној ХББ, потребно је припремити пацијента за један од облика замјене бубрежне функције: перитонеумску дијализу, хемодијализу или трансплантацију бубрега.

1.4. ПАТОФИЗИОЛОГИЈА ОСОВИНЕ

"БУБРЕГ – КОСТ – ПАРАТИРЕОИДНА ЖЛИЈЕЗДА" – ПОРЕМЕЋАЈ МЕТАБОЛИЗМА МИНЕРАЛА И КОШТАНЕ МАСЕ

Поремећај метаболизма минерала и коштане масе или минерално-коштани поремећај (МКП) представља системски поремећај који обухвата коштане и ванкоштане промјене код пацијената са ХББ. Карактеристично је његово "тихо" напредовање до унапредовалог клиничког стадијума када компликације утичу на квалитет живота и преживљавање пацијената [118]. МКП доприноси високом кардиоваскуларном морбидитету и морталитету, као и стопи фрактура код пацијената са ХББ [65].

Радна група за минерално-коштани поремећај Европског удружења нефролога дефинисала је **Поремећај метаболизма минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести (*Chronic kidney disease – mineral bone disorder, CKD-MBD*)** као системски поремећај минералног и коштаног метаболизма изазван ХББ, који се манифестује једним или комбинацијом следећих поремећаја [119]:

1. абнормалностима метаболизма калцијума, фосфора, паратиреоидног хормона или витамина *D*
2. абнормалностима у метаболизму, минерализацији, волумену, линеарном расту или јачини костију (ренална остеодистрофија)
3. васкуларним или другим мекоткивним калцификацијама.

1.4.1. Поремећај метаболизма минерала

Смањење екскреторне функције бубрега које прати прогресију ХББ доводи до поремећаја у правилној регулацији метаболизма минерала. Са аспекта МКП, недовољно излучивање фосфата услед смањене гломерулске филтрације, представља један од најзначајнијих покретача овог патолошког механизма.

У ХББ се са смањењем бубрежне функције смањује и експресија Клота, што доводи до бубрежне „резистенције“ на циркулишући *FGF23* и доприноси његовој

повишеној концентрацији у серуму [120]. Посљедишно томе се смањује и тубуларно излучивање фосфата условљено дјеловањем *FGF23*, што уз већ смањену гломерулску филтрацију, доприноси даљем напредовању хиперфосфатемије [121]. Важно је истаћи да досадашње студије нису показале значајну улогу *FGF23* у регулисању нивоа фосфата или 1,25-дихидроксивитамина *D* у примарном хиперпаратиреоидизму, посебно када су у питању пацијенти са нормалном бубрежном функцијом [122], што наглашава његову улогу у патофизиологији ХББ.

У раним стадијумима ХББ, нормалне серумске концентрације фосфата се одржавају захваљујући *FGF23* и паратиреоидном хормону, који доводе до повећане ресорпције кости и спречавања депоновања фосфата у костима [123]. У касним стадијумима болести (стадијум 4 и 5), хиперфосфатемија индукује ванкоштане калцификације [124] и повезана је са повишеним ризиком од настанка кардиоваскуларних догађаја и морталитета код ових пацијената [125]. Клиничке студије су показале да је кориштење некалцијумских везача фосфата (севеламер) повезано са слабљењем развоја васкуларних калцификација код пацијената са терминалном фазом бубрежне слабости [126].

Нарушен метаболизам калцијума значајан је за настанак секундарног хиперпаратиреоидизма као компликације ХББ. Познато је да са прогресијом ХББ се смањује и активација калцитриола у бубрезима, што доводи до смањене апсорпције калцијума из ГИТ-а и хипокалцијемије. Низак јонизовани калцијум путем калцијум-сензинг рецептора у паратиреоидним жлијездама условљава повећану продукцију и секрецију *PTH*, који има задатак да успостави равнотежу калцијума у организму. У поченим стадијумима ХББ, *PTH* успијева својим директним и индиректним механизмима да одржи нивое укупног и јонизованог калцијума у серуму у физиолошким границама. Успостављање привидног „физиолошког миљеа“ узима свој данак, гдје цијену плаћа кост жртвујући своје депое калцијума и развијајући коштану болест. Промјене кости које настају дејством паратиреоидног хормона могу прогредирати то форме браун-тумора, који су посљедица брзе ресорпције кости са хеморагијом и репаративном гранулацијом ткива, које замјењује нормалну коштану срж [127].

Са прогресијом ХББ и исцрпљивањем компензаторних механизма, наступа резистенција на дјеловање *PTH*, због чега паратиреоидне жлијезде настављају са даљом, неконтролисаном продукцијом *PTH*. Смањена експресија калцијум-сензинг рецептора у паратиреоидној жлијезди би могла допринијети развоју секундарног хиперпаратиреоидизма [128].

Супституцијом витамина *D* у лијечењу болесника са ХББ се обезбјеђује надокнада калцијума, али и супресија продукције *PTH*. Ипак, повећање апсорпције калцијума из ГИТ-а може да буде и више од жељеног, доводећи до хиперкалцијемije, која уз лијечење везачима фосфата базираним на калцијумским солима, доводи до повећаног ризика од одлагања калцијума у неким ткивима. Хиперкалцијемija уз постојећу хиперфосфатемију резултира повећањем производа калцијума и фосфата, који је познати високо-ризични фактор за настанак васкуларних калцификација у ХББ због настанка циркулишућих кристала хидрокси-апатита.

Неколико радова је показало да су хипер- и хипофосфатемија, а у мањем степену и хипер- и хипокалцијемija, повезани са повећаним релативним ризиком од морталитета код ових пацијената [129], сугеришући значај поремећаја метаболизма минерала у преживљавању обољелих од ХББ.

Иако су, захваљујући компензаторним механизмима, серумски нивои калцијума, фосфата и *PTH* у границама референтних вриједности у почетној ХББ, са клиничког аспекта значајно је напоменути да вриједности *FGF23*, као регулатора метаболизма фосфата, су повишене у ХББ у односу на здраву популацију.

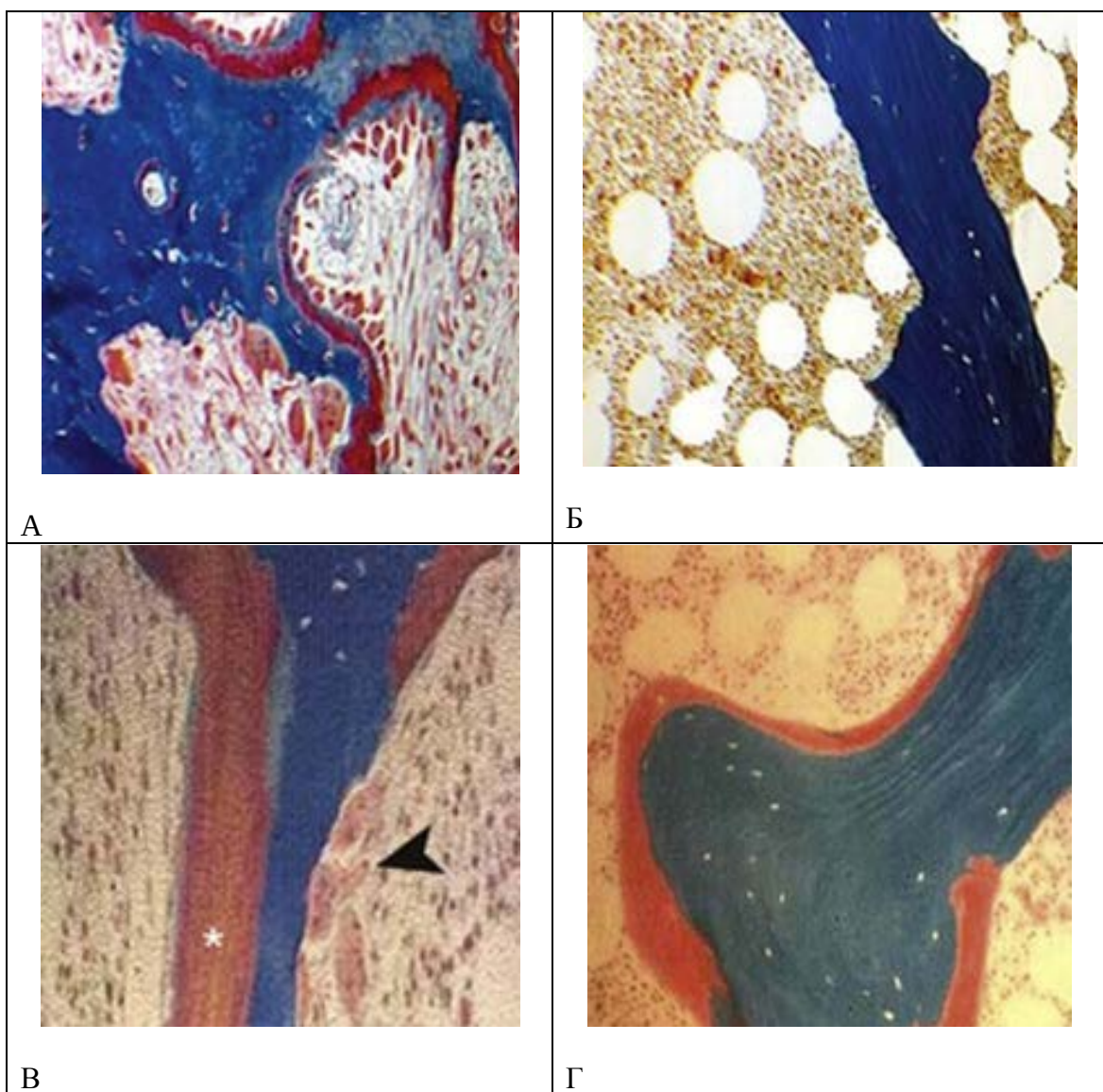
1.4.2. Поремећај коштаног метаболизма (ренална остео дистрофија)

Ренална остео дистрофија представља поремећај метаболизма и морфологије костију код пацијената са ХББ и чини коштану компоненту МКП-а. Клинички се може манифестовати боловима у костима и зглобовима, коштаним деформитетима и фрактурама костију. У односу на брзину коштаног метаболизма (ремоделовања), ренална остео дистрофија може класификовати као: 1. болест

костију са убрзаном преградњом (*eng. high-turnover bone disease*) и 2. болест костију са успореном преградњом (*eng. low-turnover bone disease*).

Хистолошки се ренална остеодистрофија класификује као [130]:

- *osteitis fibrosa cystica*
- остеомалација
- адинамична болест костију
- мијешана болест костију.



Слика 7: Хистолошка класификација реналне остеодистрофије. А- *osteitis fibrosa cystica*: појачана активност остеокласта и остеобласта са перитрабекуларном

фиброзом, Б- адинамична болест костију: одсуство ћелијске активности и остеоида, В- мијешана болест костију: активни остеокласти (црна стрелица) и задебљали остеоид (бијела звјездица), Г- остеомалација: вишак неминерализованог остеоида (обојен црвено) окружује минерализовану кост (обојено плаво) [130].

Према *NKF/KDOQI* препорукама, разликују се шест типова коштане патологије у ХББ [131]:

1. хиперпаратиреоидна коштана болест (убрзана преградња кости)
2. мијешана коштана болест (убрзана преградња кости са поремећеном минерализацијом)
3. остеомалација
4. адинамична болест костију
5. амилоидна коштана болест
6. алуминијумска болест костију.

Адинамична болест костију се карактерише успореном коштаном преградњом, са нешто остеобласта или без њих и са минималном перитрабекуларном фиброзом или фиброзом коштане сржи, односно нарушени су и синтеза колагена и његова минерализација [131]. За разлику од адинамичне болести костију, код остеомалације минерализациони дефект надмашује поремећај коштаног формирања, што доводи до релативног вишка остеоида [132].

Сви типови реналне остеоидистрофије код пацијената са хроничном бубрежном болешћу су повезани са повећаним ризиком од настанка коштаних фрактура, са смањењем квалитета живота и са лошим клиничким исходом [133]. Пацијенти који имају процијењени клиренс креатинина $<60 \text{ ml/min}$ имају двоструко већи ризик од настанка фрактура, док је ризик четворострук код пацијената на дијализи [134].

Биопсија кости представља златни стандард у дијагностици поремећаја коштаног метаболизма. Коштана хистоморфометрија даје увид у коштану преградњу, минерализацију и волумен кости, односно омогућава увид у квалитет кости [135]. Међутим, битно је нагласити да биопсија кости одражава коштани

статус у јединици времена, као и да узорак биопсије узет из илијачне кости не мора да одражава промјене и у другим костима [136].

Досадашње студије су показале да се са прогресијом ХББ мијења и коштани метаболизам. У почетној ХББ постоји резистенција на дјеловање *PTH*, која је условљена присуством уремијских токсина (као нпр. индоксил-сулфата) и потпомогнута другим факторима: дефицијенција полних хормона, дијабетес, ниски нивои калцитриола, малнутриција, стање хроничне инфламације [136]. Са прогресијом ХББ се додатно повећава ниво *PTH* које може да превазиђе инхибиторне ефекте индоксил-сулфата [137].

Код пацијената са ХББ на коштани метаболизам утиче много фактора: пол, доб, исхрана, физичка активност и терапија коју пацијенти узимају (прије свега кортикостероиди и имуносупресиви). Употреба калцијум-карбоната као везача фосфата, као и витамина *D*, доводи до супресије синтезе и секреције *PTH*, те на тај начин утиче на промјену брзе коштане преградње у спору (адинамичну болест костију) [138]. Пацијенти са терминалном ХББ који се лијече методом хемодијализе или перитонеумске дијализе, имају већи ризик од развоја адинамичне болести костију и васкуларних калцификација уколико се користе високе концентрације калцијума у дијализату [139]. Битно је истаћи и да је висока учесталост адинамичне болести костију код пацијената на перитонеумској дијализи повезана са високим концентрацијама склеростина у серуму, имајући у виду инверзну повезаности између овога инхибитора *Wnt* сигналног пута и брзине формирања кости [140].

Досадашње студије о повезаности између нивоа серумског склеростина и коштаног метаболизма су опречне. Поједини аутори су објавили да нивои склеростина код пацијената са ХББ корелирају са већом коштаном густином [141]. Знајући да је склеростин инхибитор формирања кости, овај податак је збуњујући и чека вјеродостојно објашњење [65]. Према другим ауторима, повишене вриједности склеростина у серуму су повезане са повећаним ризиком од фрактура код пацијената са остеопорозом и дијабетесом типа 2 [142].

Лима и сарадници су предложили *FGF23* као значајан маркер који би могао послужити у разликовању брзе од споре коштане преградње, као и у

диференцирању нормалне и патолошке минерализације [143]. С обзиром да до сада није разјашњена улога склеростина, али ни *FGF23*, као показатеља патолошког коштаног метаболизма, потребне су даље студије које би дефинисале улогу ових биомаркера у дијагностици минерално-коштаног поремећаја код пацијената са ХББ.

1.4.3. Кардиоваскуларна болест у уремији – хипертрофија лијеве коморе срца, васкуларне калцификације, ендотелна дисфункција и атеросклероза

Пацијенти са ХББ имају повећан ризик од кардиоваскуларног морталитета. *MADIT II (Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial - II)* студија је показала да се за сваких $10 \text{ ml/min/1,73m}^2$ смањења гломерулске филтрације ризик од изненадне срчане смрти повећава за 17% [144]. Кардиоваскуларна болест присутна код обољелих од ХББ обухвата: хипертрофију лијеве коморе срца, калцификацију интрамиокардних артериола, вентрикуларне аритмије и изненадну срчану смрт [145,146]. Поред наведенога, пацијенти са ХББ су подложни развоју мекоткивних калцификација, међу којима су, са клиничког аспекта, најзначајније калцификације крвних судова.

Током претходних деценија, дефицит калцитриола заједно са секундарним хиперпаратиреоидизмом и хиперфосфатемијом је посматран као главни узрок настанка кардиоваскуларне болести код пацијената са хроничном болешћу бубрега. Дефинисање *FGF23* као главног регулатора хомеостазе фосфата и као предиктора ризика од морталитета код ових пацијената, довела је до промјене претходног става у току протеклих десетак година [147,148].

Повишене вриједности *FGF23* код пацијената са ХББ могу бити последица следећих механизма: смањење реналног клиренса *FGF23*, хиперфосфатемија, лијечење аналозима витамина *D*, повећана продукција *FGF23* у остеоцитима и смањење секреције Клота [149]. Код пацијената са ХББ следећи фактори регулишу ниво *FGF23* [150]:

- повишен ниво *FGF23* – паратиреодни хормон, ремоделовање кости, унос фосфата, метаболити витамина *D*, калцијум, ацидоза, лијечење жељезом
- снижен ниво *FGF23* – везачи фосфата, калцимитетици, паратиреоидектомија.

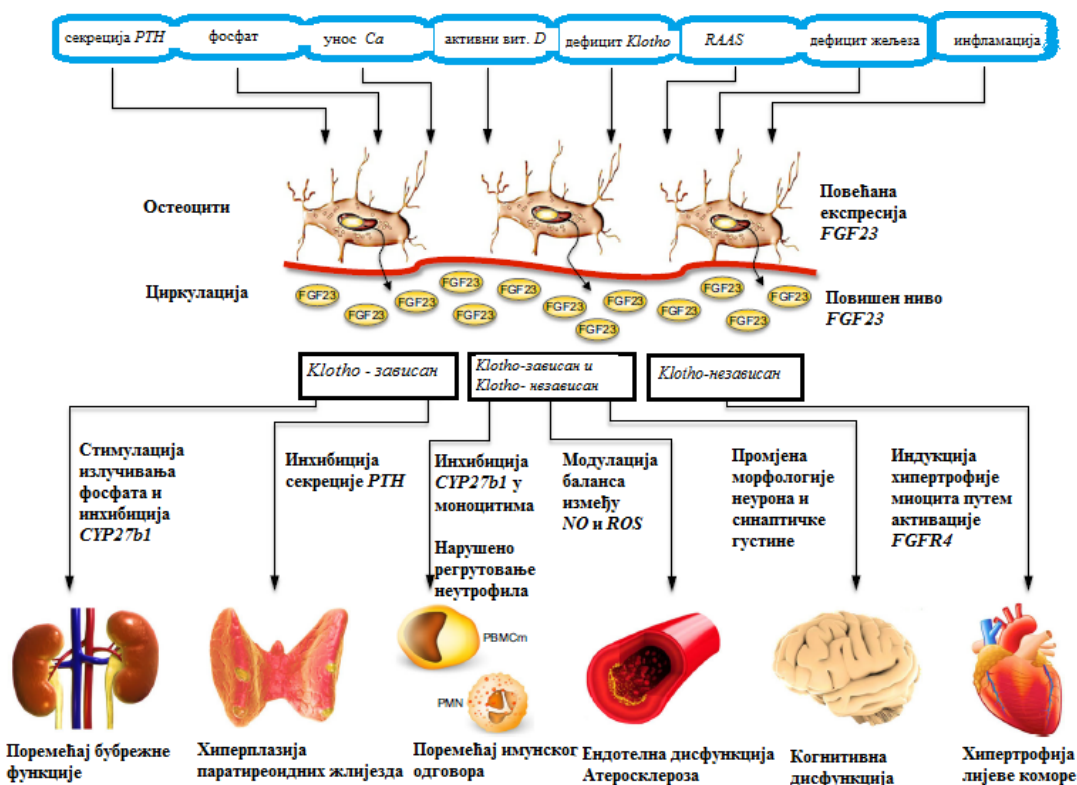
Са патофизиолошког становишта, значајно је истаћи да су експерименталне студије показале да *FGF23* доводи до хипертрофије кардиомиоцита путем повећања интрацелуларног калцијума Клото-независним сигналним путем [151]. Студије су показале да *FGF23*, као регулатор интрацелуларног калцијума у кардиомиоцитима и атријалним миоцитима, доводи до повећања контрактилности миокарда, хипертрофије кардиомицита и аритмогенезе, те на тај начин и настанка хипертрофије лијеве коморе срца [151].

Нестлер и сарадници су показали да *FGF23* индукује хипертрофију кардиомиоцита путем активације *NFAT* пута (*eng. Calcineurin-nuclear factor of activation T-calls pathway*) који је зависан од дјеловања фосфоинозитид-специфичне фосфолипазе *C* гама (*eng. Phosphoinositide-specific phospholipase C gamma, PLCγ*), а не преко *MAPK* (*eng. mitogen-activated protein kinase*) сигналног пута, с обзиром да Клото није експримиран у кардиомиоцитима [152]. У основи, *FGF23* испољава своје дејство везујући се за *FGFR4* рецептор [153] (Слика 8).

Клиничке студије су показале да су и хиперфосфатемија и повишени нивои *FGF23* повезани са хипертрофијом лијеве коморе срца и конгестивном срчаном слабошћу, независно од бубрежне функције [154]. Хиперфосфатемија би у овом случају могла утицати индиректно, путем повећања оптерећења лијеве срчане коморе притиском због смањене васкуларне комплијансе и валвуларне срчане болести (узроковане настанком калцификација) [155].

Резултати *CRIC* (*Chronic Renal Insufficiency Cohort Study*) студије су показали да је *FGF23* независно повезан са инцидентном и превалентном атријалном фибрилацијом код пацијената са благом до тешком ХББ, највјероватније као резултат настанка хипертрофије лијеве коморе срца, увећања атрија и срчане слабости [156].

Такође, показано је и да је концентрација циркулишућег *FGF23* повишена код пацијената са срчаном слабошћу, корелира са тежином срчане слабости и независни је предиктор лошег исхода код ових пацијената [157,158].



Слика 8. Улога *FGF23* у сложеној патофизиологији *CKD-MBD* [Модификовано према референци 159]; *PMN* – полиморфонуклеарни леукоцити, *PMBCm* – моноцити из периферне крви, *ROS* – реактивна кисеонична једињења, *NO* – азот-оксид.

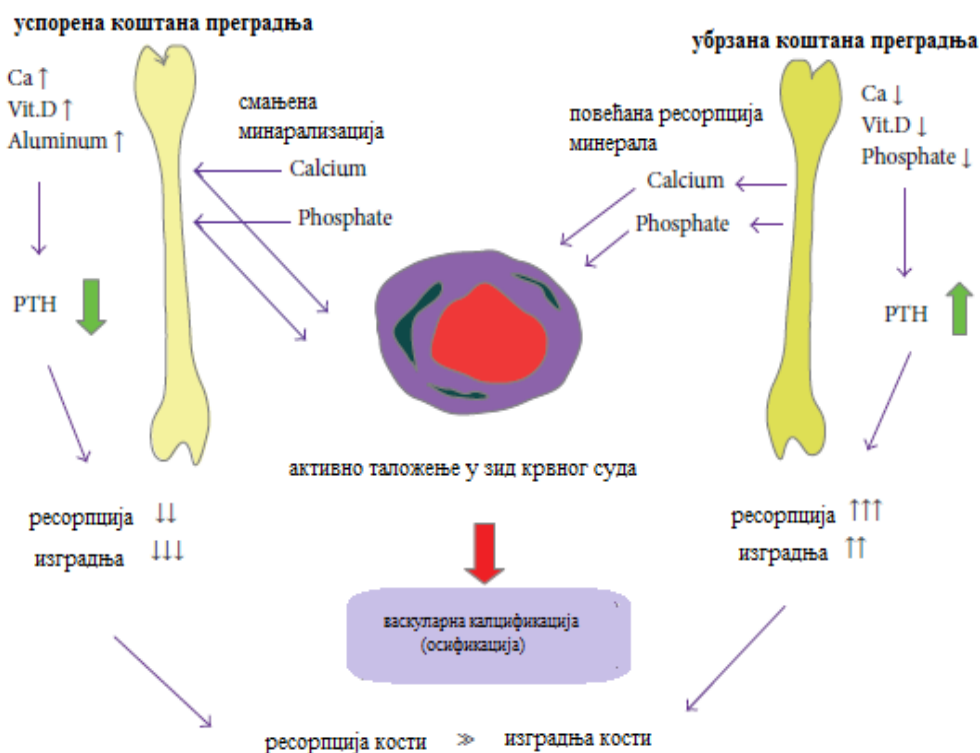
За разлику од *FGF23*, који има доминантну улогу у настанку кардијалне патологије, хиперфосфатемија је означена као главни фактор који доприноси развоју васкуларних калцификација у стању уремије. Експериментално је потврђено да исхрана богата фосфатима, али и други процеси који узрокују хиперфосфатемију (блокада *FGF23* антитијелима, генетска делеција *FGF23* и Клота), доводе до развоја васкуларних калцификација [160]. Експерименталне студије су, такође, показале да високе концентрације фосфата узрокују апоптозу, стимулишу производњу слободних кисеоничних радикала и спречавају секретију азотног оксида, те тако утичу неповољно на физиологију ендотелних ћелија [161].

Слично васкуларним глатко-мишићним ћелијама, кључну улогу у настанку ендотелне дисфункције имају високе интрацелуларне концентрације фосфата [162]. За разлику од фосфата, *FGF23* инхибише процес апоптозе, али стимулише пролиферацију ендотелних и васкуларних глатко-мишићних ћелија [163].

Значај хиперфосфатемије у настанку васкуларних калцификација потврђена је и у људској популацији, гдје су повишене вриједности серумског фосфата биле повезане са присуством калцификација коронарних артерија, грудне аорте, као и калцификација митралне и аортне валвуле [164]. Опсервационе студије у хуманој популацији су потврдиле повезаност између хиперфосфатемије и развоја значајне коронарне и каротидне атеросклерозе [165].

Присуство *FGF23* је потврђено у калцификованим атеросклеротским лезијама популације и без ХББ [166]. Међутим, до сада није познато да ли повишене вриједности *FGF23* претходне настанку атеросклерозе или представљају маркер већ развијене болести [166].

Калцификације могу настати или у интими (унутрашњи слој) или медији (средишњи слој) крвног суда, а као посљедица задебљања интима-медија комплекса и формирања атеросклеротског плака са повредом интима, локалном калцификацијом и дислипидемијом са посљедичном акумулацијом пјенастих ћелија као главним окидачким процесом [167]. За разлику од атеросклерозе, која погађа интиму великих и средњих артерија и углавном је повезана са "традиционалним" факторима ризика (пушење, гојазност, дислипидемија, хипертензија и старење), калцификација медије се може јавити у артеријама било које величине и типичан је процес повезан са годинама старости, те повећаном уоченошћу и смањеном растегљивошћу крвног суда [168]. Код пацијената са дијабетесом и/или хроничном болешћу бубрега, обе форме калцификација су присутне (интима и медије), али се обично не прави разлика међу њима у епидемиолошким студијама, пошто је тешко направити стриктну разлику, изузев ако су доступни узорци крвних судова за хистолошку евалуацију [169]. Иако се почетни догађаји који воде до калцификације интима и медије разликују, оба одражавају активан и високо регулисан процес, који веома наликује на ендохондрално и/или интрамембранско формирање кости (Слика 9).



Слика 9. Повезаност између коштане и васкуларне болести у ХББ [Модификовано према референци 170]

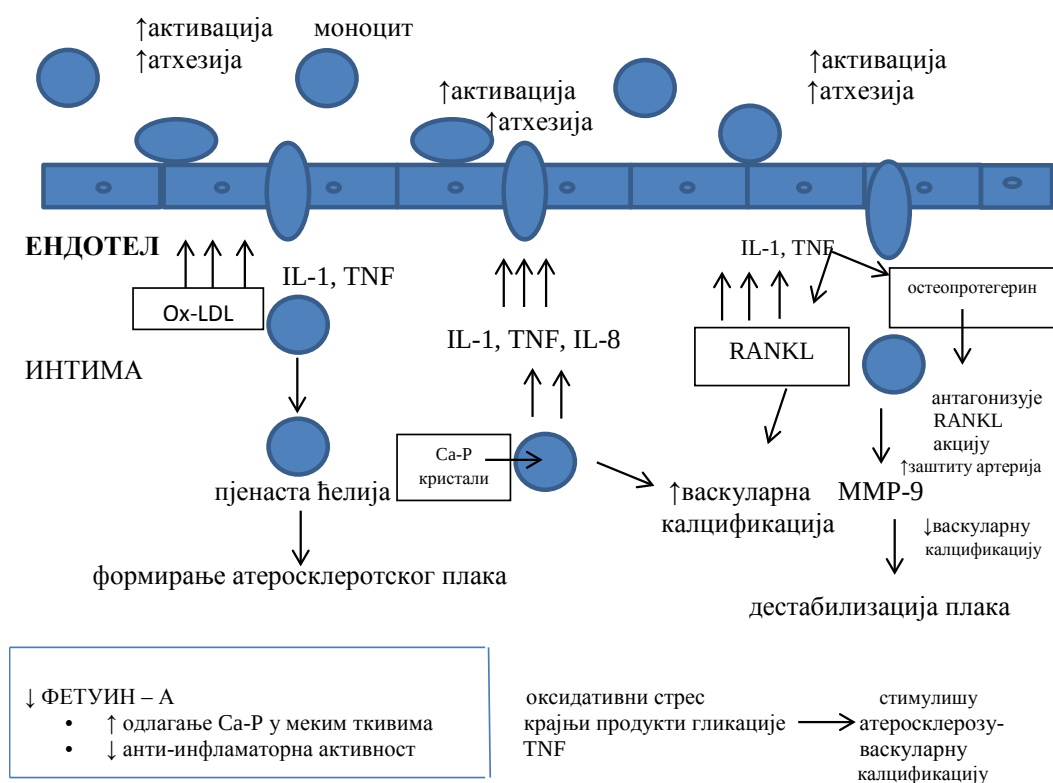
Инверзна повезаност између минерализације кости и оштећења крвних судова изазваног поремећајем минерала, примијећено је и код опште популације и код пацијената са хроничном болешћу бубрега (калцификациони парадокс) [171]. У ХББ васкуларне глатко-мишићне ћелије подлијежу хондро-остеогеној фенотипској диференцијацији, што резултира стварањем васкуларних калцификација, које доприносе лошем кардиоваскуларном исходу [172].

Васкуларне глатко-мишићне ћелије експримирају тип 3 натријум-зависних фосфатних котранспортера (*NaPi III*), *PiT-1* и *PiT-2* [173]. *PiT-1* стимулише, док *PiT-2* инхибише настанак васкуларних калцификација индукованих од стране повишених вриједности фосфата [174]. *In vitro* студије су показале да је висока концентрација фосфата, која доводи до настанка калцификација у хуманим глатким мишићним ћелијама, заправо зависна од функције натријум-фосфат котранспортера (*NaPi III*, *Pit I*) и укључује директну индукцију остеобласт-специфичних гена *Osf2/Cbfa-1*, који регулишу и експресију остеокалцина [175].

Поред хиперфосфатемије, значајну улогу у патогенези васкуларних калцификација има уремија. Мое и сарадници су показали повећану експресију

Osf2/Cbfa-1, као регулатора деиференцијације остеобласта и остеопонтина у интими и медији калцификованих епигастричних артерија пацијената са уремијом [176].

Регулација васкуларне калцификације од стране остеокластних регулаторних фактора (*Receptor activator of nuclear factor κ B ligand* – *RANKL*), његовог рецептора (*RANK*) и остеопротегерина утиче на инфламаторну компоненту атеросклерозе [177].



Слика 10. Фактори који модулирају васкуларну калцификацију у процесу атеросклерозе путем инфламације [Модификовано према референци 178].

Ослобађање *RANKL* из ендотелних ћелија је изазвано проинфламаторним цитокинима (фактор туморске некрозе – *tumor necrosis factor* – *TNF*, интерлеукин 1 (*IL-1*) и др.) или припајањем активисаних лимфоцита на васкуларни зид на мјесту атеросклерозе. *RANKL* производи остеокластну трансформацију моноцита и остеогену диференцијацију васкуларних глаткомишићних ћелија (процес

укључен у васкуларну калцификацију) и индукује ендотелну хемотаксичну миграцију моноцита на ендотел и активацију матрикс-металопротеиназе 9 у моноцитима (процес који је есенцијалан за развој и дестабилизацију атеросклеротског плака) [179] (Слика 10). Са друге стране, остеопротегерин има анти-инфламаторно и анти-атеросклеротско дејство и показује супротне ефекте *RANK* сигнализацији [180]. У спречавању развоја васкуларних калцификација учествују следећи инхибитори калцификације: аденозин, пирофосфат, остеопонтин, фетуин А, матрикс *Gla* протеин, остеопротегерин и коштани морфогенетски протеин 7 (*eng. bone morphogenetic protein 7*) [181]. У ХББ индуктори калцификације су уремијски токсини, хиперкалцијемија, хиперфосфатемија, повишени нивои *PTH*, инфламаторни цитокини, оксидативни стрес и крајњи производи гликације (*eng. advanced glycation end products, AGEs*) [182].

У настанку кардиоваскуларне болести у уремији, битно је споменути још један значајан механизам. Наиме, *FGF23* директно стимулише систем ренин-ангиотензин-алдостерон путем супресије ангиотензин-конвертујућег ензима-2 (чија је експресија у бубрезима) [183]. Активација система ренин-ангиотензин-алдостерон је повезана са бројним штетним посљедицама (хипертензија, барорецепторна дисфункција, симпатичка активација, ендотелна дисфункција, инхибиција фибринолитичког система [184], као и смањењем бубрежне експресије Клота [185].

Поред *FGF23*, новије студије се баве и испитивањем повезаности између склеростина и васкуларних калцификација у ХББ. Код пацијената на хемодијализи, који имају развијене калцификације, доказано је значајна усходна регулација склеростинске *mRNA* у ткиву аортне валвуле, у односу на пацијенте који нису развили калцификације [186]. Са друге стране, није доказана значајна корелација између калцификација коронарних артерија у стању уремије и нивоа склеростина [187]. Стога је још увијек нејасно, да ли повишене вриједности склеростина у серуму потичу из васкуларног ткива, коштаног ткива или оба [188]. Како вриједности серумског склеростина позитивно корелирају са присуством васкуларних калцификација у ХББ, али са инверзном корелацијом у мултиваријантној анализи, претпоставка је да *SOST*/склеростин експресија у васкуларним глатко-мишићним ћелијама представља компензаторни механизам како би се смањила даља прогресија васкуларних калцификација [189].

У лијечењу пацијената са ХББ потребно је смањити ниво фосфата како би се спријечио или зауставио процес настанка васкуларних калцификација. Студије су показале да употреба севеламера (некалцијумског везача фосфата) утиче на снижење, не само серумског фосфата, него и нивоа *FGF23*, резултирајући побољшањем ендотелне функције. Са друге стране, употреба калцијум-ацетата (везача фосфата базираног на калцијуму), осим благог снижења фосфата, није довела до наведених ефеката [190].

С обзиром да су клиничке студије показале повезаност између *FGF23* и кардиоваскуларног ризика, хипертрофије лијеве коморе и васкуларних калцификација, *FGF23* је представљен као могућност за дјеловање нових терапијских модалитета како би се побољшало преживљавање пацијената са хроничном бубрежном болешћу [191]. Међутим, приступ превенцији васкуларних калцификација и смањењу кардиоваскуларног ризика треба да обухвати истовремено снижење нивоа фосфата и *FGF23*. Наиме, блокада само *FGF23* помоћу специфичних антитијела доводи до настанка тешке хиперфосфатемије, хиперкалцијемије због хипервитаминозе витамина *D*, тешких калцификација и преране смрти експерименталних животиња [160].

Стога би најбољи приступ био смањење уноса фосфата исхраном, што ће уједно смањити и ниво фосфата у серуму и ниво *FGF23*. Значајно је истаћи да тип исхране утиче и на апсорпцију фосфата из ГИТ-а. Уколико се фосфат уноси у виду биљних протеина, апсорпција ће бити мања него уколико се уноси путем животињских протеина, јер је у биљним протеинима фосфат налази везан унутар фитата, комплексне прстенасте структуре која се слабо вари у хуманом ГИТ-у [192].

Како су поједине клиничке студије показале да употреба везача фосфата може да доведе до усходне регулације *NaPi2b* у интестиналном тракту и слабљења ефикасности ових лијекова [193], у току је *COMBINE* клиничка студија која испитује ефикасност истовремене примјене везача фосфата и никотинамида као инхибитора *NaPi2b* на различите исходе, као нпр. хипертрофије лијеве коморе, реналне фиброзе, нивоа фосфата, *FGF23* и других биомаркера [194].

Значај *FGF23* и склеростина у настанку васкуларних калцификација још није расвијетљен, због чега су потребне нове клиничке и експерименталне студије [195].

2. Хипотеза

1. Промјене вриједности серумског *FGF23* и склеростина се јављају у почетном стадијуму хроничне болести бубрега (стадијум 1 и 2) прије промијена серумског калцијума, фосфата, витамина *D*, *ALP*, *BALP* и *PTH*.
2. Постоји повезаност серумског *FGF23* и склеростина са другим параметрима поремећаја минерала и коштане масе код пацијената са хроничном болешћу бубрега.
3. Постоји значајна разлика у вриједностима *FGF23* и склеростина у различитим стадијумима хроничне болести бубрега (почетна, манифестна и терминална бубрежна болест).
4. Постоји повезаност серумског *FGF23* и склеростина са повећањем дебљине интима-медија комплекса у почетном стадијуму хроничне болести бубрега.

3. Циљеви истраживања

1. Одредити концентрацију серумског *FGF23*, склеростина, *Ca*, *P*, витамина *D*, *ALP*, *BALP*, *PTH* код пацијената у свим стадијумима хроничне болести бубрега.
2. Испитати повезаност нивоа серумског *FGF23* и склеростина са нивоом *Ca*, *P*, витамина *D*, *ALP*, *BALP*, *PTH* код пацијената са хроничном болешћу бубрега.
3. Упоредити вриједности испитиваних параметара између група пацијената са хроничном болешћу бубрега (почетна, манифестна и терминална бубрежна болест).
4. Испитати повезаност између серумских параметара поремећаја метаболизма минерала и коштане масе са дебљином интима-медија комплекса код пацијената у свим стадијумима хроничне болести бубрега.

4. Материјал и методе

4.1. Избор испитаника

Истраживање је спроведено по моделу студије пресека. Пацијенти укључени у истраживање одабрани су приликом контролних прегледа у нефролошкој амбуланти и током хоспиталног лијечења на одјељењу нефрологије Клинике за унутрашње болести Универзитетског клиничког центра Републике Српске у периоду мај 2014. године – јул 2016. године. Узорак од 88 пацијената је формиран на основу добровољног пристанка информисаних пацијената и укључио је пацијенте оба пола, без обзира на узрок бубрежне болести.

За израчунавање потребне величине узорка кориштена је формула за студије пресека у медицинским истраживањима [196]:

$$\text{величина узорка} = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \times p(1-p)}{d^2}$$

$Z_{1-\alpha/2}$ - стандард нормалних промјенљивих (за 5% грешку типа I ($p < 0,05$) износи 1,96, а за 1% грешку типа I ($p < 0,01$) износи 2,58). С обзиром на чињеницу да се у већини студија p вриједност сматра значајном испод 0,05, и у овом истраживању се у формули користи вриједност 1,96.

p - очекивана заступљеност обољења базирана на претходним студијама (у случају хроничне бубрежне болести 6%).

d - апсолутна грешка или прецизност (одлуку доноси истраживач) – у овом истраживању износи 5%.

На основу напријед наведене формуле добијена је потребна величина узорка која је репрезентативна за популацију Републике Српске:

$$\text{величина узорка} = \frac{1,96^2 \times 0,06(1-0,06)}{0,05^2} = \frac{3,84 \times 0,06 \times 0,94}{0,025} = 86$$

4.2. Критеријуми укључивања/неукључивања у истраживање

4.2.1. критеријуми укључивања:

- Присуство болести бубрега у трајању од најмање три мјесеца које задовољава критеријуме (један или више):
 - албуминурија (количина албумина излучена мокраћом: $\geq 30 \text{ mg}/24\text{h}$, $\geq 3 \text{ mg}/\text{mmol}$)
 - протеинурија (количина протеина излучена мокраћом: $\geq 300 \text{ mg}/24\text{h}$)
 - патолошки седимент мокраће
 - поремећај серумских електролита због болести тубула
 - патохистолошки поремећаји (потврђени биопсијом бубрега)
 - поремећаји грађе бубрега откривени методама визуализације
 - смањење јачине гломерулске филтрације ($\text{GFR} < 60 \text{ ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$)
- пацијенти старији од 18 година
- добровољни пристанак информисаног пацијента

4.2.2. критеријуми неукључивања:

- пацијенти код којих болест бубрега траје мање од три мјесеца
- пацијенти млађи од 18 година
- труднице
- пацијенти који нису заинтересовани за учешће у истраживању.

Протокол истраживања је одобрен од стране Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Републике Српске (бр. 01-9-153.2/14, од 28.05.2014. године).

4.3. Формирање група пацијената

За процјену јачине гломерулске филтрације - *estimated glomerular filtration rate (eGFR)* кориштена је *MDRD* формула (*Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Formula*), коју је развила Студијска група за модификацију дијете у бубрежној болести [5]:

$$eGFR = 32788 \times \text{серумски креатинин}^{-1,154} \times \text{године}^{-0,203} \times [1,210 \text{ код црне расе}] \times [0,742 \text{ код жена}]$$

Накод одређивања *eGFR*, пацијенти су класификовани у стадијуме ХББ према Табели 2:

Табела 2: Стадијуми хроничне болести бубрега у односу на процијењену јачину гломерулске филтрације [197]

СТАДИЈУМИ ХРОНИЧНЕ БУБРЕЖНЕ БОЛЕСТИ		
СТАДИЈУМ	ОПИС	<i>GFR</i> ml/min/1,73 m ²
1	оштећење бубрега са нормалном или повишеном <i>GFR</i>	≥90
2	оштећење бубрега са благо сниженом <i>GFR</i>	60-89
3	умјерено снижена <i>GFR</i>	30-59
4	тешко снижена <i>GFR</i>	15-29
5	инсуфицијенција бубрега	≤15 или дијализа

Скраћенице: *GFR* (*glomerular filtration rate*) – јачина гломерулске филтрације.

За додатну анализу параметара минералног-коштаног поремећаја, пацијенти су након одређивања стадијума ХББ, класификовани у три групе зависно од манифестације хроничне бубрежне болести:

1. група – пацијенти са почетном бубрежном болешћу (стадијум 1 и 2)
2. група – пацијенти са манифестном бубрежном болешћу (стадијум 3 и 4)
3. група – пацијенти са терминалном бубрежном болешћу (стадијум 5).

4.4. Лабораторијска испитивања

Узорковање крви је вршено наташте, а биохемијске анализе за процјену бубрежне функције, коштаног и минералног статуса (креатинин, калцијум, фосфат, алкална фосфатаза, паратиреоидни хормон) су рађене према стандардним протоколима. Серум за анализу *FGF23*, склеростина, коштано-специфичне алкалне фосфатазе и 25-хидрокси-витамина *D* је замрзнут и чуван на $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ до израде есеја на апаратима *BioTek ELx50 Washer* и *BioTek ELx800 Absorbance Reader*. Кориштени су следећи китови за одређивање концентрација *ELISA* – имуноензимском техником: *ELISA Kit, Elabscience, WuHan, PRC*.

Референтне вриједности укупног калцијума и фосфата у серуму су дефинисане као $2,25\text{--}2,50\text{ mmol/L}$ и $0,80\text{--}1,50\text{ mmol/L}$. Опсег нормалних вриједности алкалне фосфатазе је $60\text{--}142\text{ U/L}$ за мушкарце и $50\text{--}153\text{ U/L}$ за жене, а паратиреоидног хормона $10\text{--}65\text{ ng/L}$.

Распон нормалних вриједности за коштано-специфичну алкалну фосфатазу је $6,5\text{--}20,1\text{ }\mu\text{g/L}$. Адекватне вриједности $25(\text{OH})\text{D}$ су $> 30\text{ ng/mL}$, док су вриједности $15\text{--}30\text{ ng/mL}$ означене као инсуфицијентне и $< 15\text{ ng/mL}$ као дефицит витамина *D*.

Базирано на подацима досадашњих клиничких студија, вриједности *FGF23* веће од 50 ng/L означене су као повишене вриједности [198–200]. Вриједности склеростина очекиване за здраву популацију износе $0,13 \pm 0,05\text{ ng/mL}$ [201].

4.5. Ултразвучно мјерење

Ултразвучно мјерење је вршено на апарату *LOGIQ P6 PRO for Korea, MODEL 5415178, GE Healthcare, GE Ultrasound Korea, Asia Service Operation* са линеарном сондом *GE 11L Linear Probe, 3.4–10.8MHz*. Приликом мјерења, пацијенти су били у лежећем положају са благо окренутом главом контралатерално од стране мјерења.

Дебљина каротидног интима-медија комплекса (*Common carotide intimal medial thickness, IMT*), тј. растојање од интима до медије заједничке каротидне артерије, мјерена је према препорукама Манхајмског консензуса (*Mannheim*

Carotid Intima-Media Thickness Consensus recommendations 2004-2006), на 1 cm од каротидног булбуса као средња вриједност три мјерења у дужини од 1 cm, а потом је анализирана средња вриједност обе заједничке каротидне артерије [202]. У складу са Манхајмским концензусом, анализирано је и присуство атеросклеротског плака у заједничким каротидним артеријама, унутрашњој и/или спољашњој каротидној артерији, дефинисано као фокална структура која продире у лумен артерије у дебљини од најмање 0,5 mm или 50% околне дебљине IMT [202]. Вриједност $IMT > 0,9 mm$ дефинисана је као патолошки налаз [203].

4.6. Статистичка анализа и приказ података

Узорковање је вршено методом случајног узорка, што гарантује да је изабрани узорак репрезентативан за популацију и обезбјеђује валидност статистичког закључивања. За описивање појединачних варијабли у узорку, али и у појединачним групама, кориштене су методе дескриптивне статистике: аритметичка средина, као мјера централне тенденције и стандардна девијација, као мјера дисперзије.

Повезаност између варијабли утврђена је помоћу корелационе и регресионе анализе (линеарна и бинарна логистичка регресија). Пирсонов коефицијент корелације кориштен је за утврђивање корелације између варијабли са нормалном дистрибуцијом и код којих је присутна линеарна повезаност. За варијабле код којих није била присутна линеарна повезаност, употребљен је Спирманов коефицијент корелације. За дефинисање сличности и разлика између група узорка кориштена је анализа варијансе (*Analysis of Variance, ANOVA*). Нулта хипотеза је тестирана кориштењем Студентовог Т-теста, а статистички значајним су сматрани резултати при $p < 0,05$ и високо статистички значајни при $p < 0,001$. Предиктивне вриједности одређених параметара за настанак нежељених догађаја анализирана је помоћу криве осјетљивости дијагностичког теста (*Receiver operating characteristic curve*), односно ROC анализом.

За статистичку обраду података и графички приказ кориштени су *SPSS Statistics 22* (IBM Corp. Released 2013. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.*) и *R i386 3.3.2* статистички програми.

5. Резултати

5.1. Анализа карактеристика испитиване популације

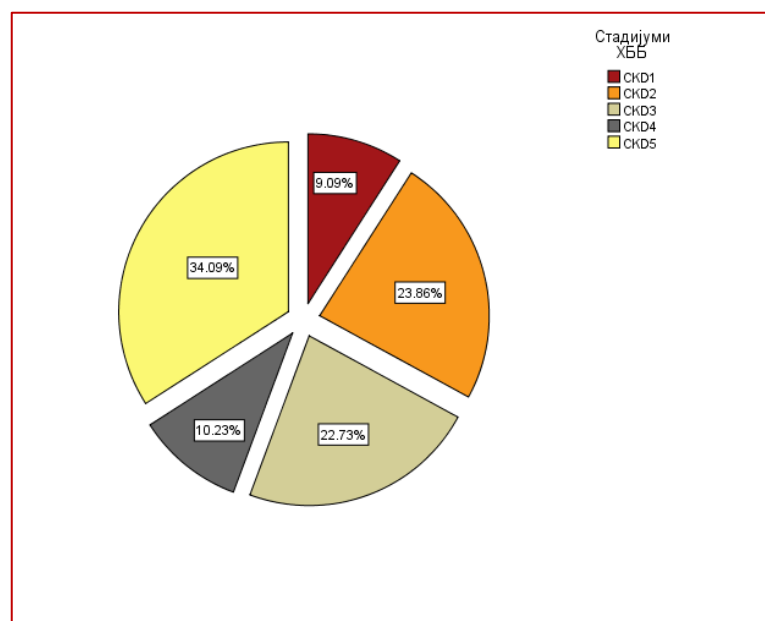
Истраживање је обухватило 88 пацијената који су задовољили критеријуме укључивања, односно код којих је постављена дијагноза ХББ. У испитиваној популацији било је 49 (56%) жена и 39 (44%) мушкараца.

Табела 3: Основне карактеристике пацијената

	Минимум	Максимум	Средња вр.	Станд. дев.
Године	29	84	62,84	11,37
CCI	0	6	2,55	1,49
HbA1c (%)	5,46	10,6	7,81	1,28
Креатинин ($\mu\text{mol/L}$)	54	1087	296,71	276,06
eGFR (ml/min/1,73m^2)	3	110	40,59	31,15

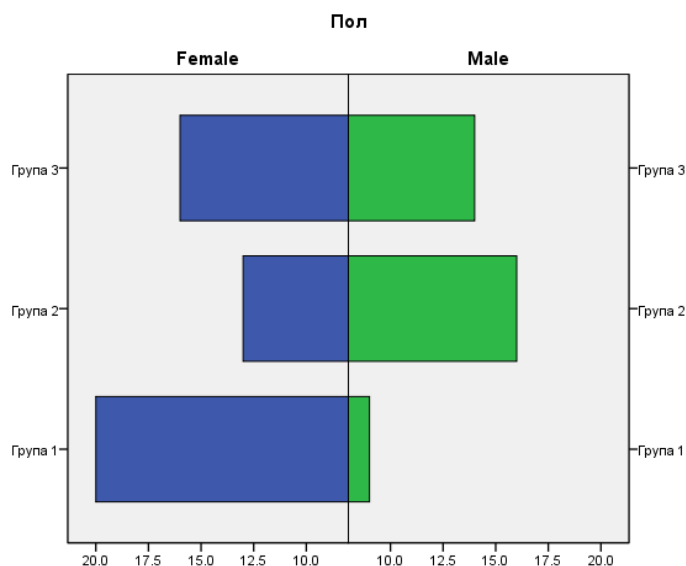
Скраћенице: CCI (Charlson comorbidity index) – Чарлсонов индекс коморбидитета, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације.

На Табели 3 су приказани животна старост испитаника, карактеристике бубрежне функције и присуство коморбидитета, изражено кроз Чарлсонов индекс коморбидитета. Заступљеност појединих стадијума ХББ у испитиваној популацији приказана је на Дијаграму 1.

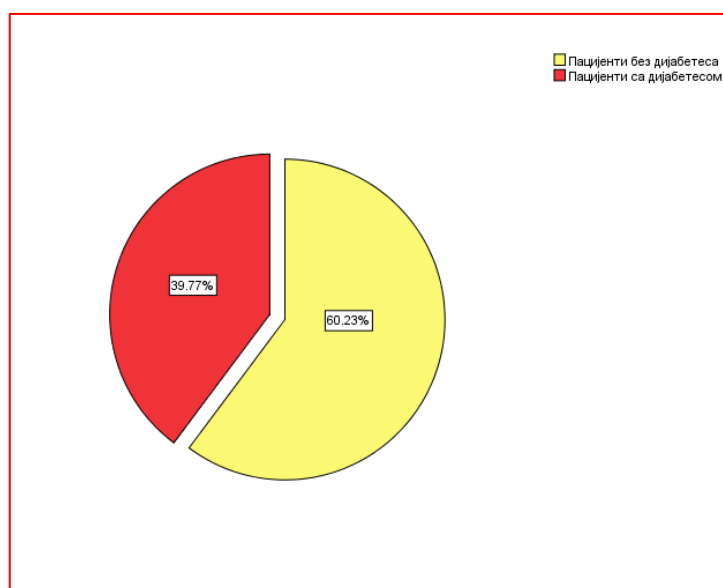


Дијаграм 1: Заступљеност пацијената у односу на стадијум хроничне бубрежне болести, CKD (chronic kidney disease) – хронична бубрежна болест.

Анализирајући према стадијумима ХББ, највећи број пацијената у узорку припада стадијуму 5, тј. терминалном стадијуму ХББ (34.09%). С обзиром да стадијум 1 и 2 чине почетну бубрежну болест (укупно 32,75%), као и да стадијум 3 и 4 чине манифестну бубрежну болест (укупно 33,96%), у узорку су у једнаком удјелу заступљене почетна (група 1), манифестна (група 2) и терминална (група 3) ХББ. Заступљеност према полу у свакој групи пацијената приказана је на Дијаграму 2.

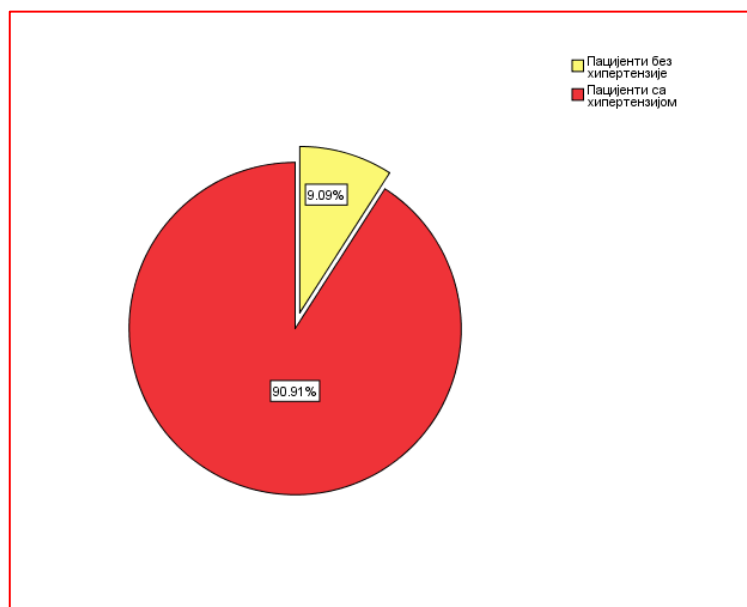


Дијаграм 2: Заступљеност пацијената према полу у односу на групу бубрежне болести. Мушкарци – зелена боја, жене – плава боја.



Дијаграм 3: Заступљеност дијабетес мелитуса у испитиваној популацији

Испитивана популација обухватила је велики број пацијената који се лијече од дијабетес мелитуса, укупно 35 испитаника (40%) (Дијаграм 3). Слично томе, хипертензија је била заступљена у веома високом проценту (91%, односно 80 испитаника) (Дијаграм 4).



Дијаграм 4: Заступљеност хипертензије у испитиваној популацији

Дијабетес мелитус и артеријска хипертензија су били и најчешћи узрочници ХББ у испитиваној популацији. Остала обољења, која су условила настанак ХББ, приказана су на Табели 4.

Табела 4: Етиологија ХББ у испитиваној популацији

Основно обољење	Проценат (%)
Дијабетесна нефропатија	35,63
Нефроангиосклероза	14,94
Хронични гломерулонефритис	9,19
Полицистична болест бубрега	9,19
Нефролитијаза	8,05
Хипотрофија бубрега	5,75
Лупус нефритис	2,3
Тубулоинтерстицијални нефритис	1,15
Алпортов синдром	1,15
Балканска ендемска нефропатија	1,15
Непознато	11,49

Табела 5: Вриједности *CKD-MBD* параметара и интима-медија комплекса у испитиваној популацији пацијената.

	Минимум	Максимум	Средња вр.	Станд. дев.
Ca (mmol/L)	1,74	3,40	2,35	0,21
P (mmol/L)	0,80	2,20	1,27	0,33
СахР (mmol²/L²)	1,74	5,53	2,97	0,84
ALP (U/L)	37,00	312,00	91,46	49,70
BALP (μg/L)	2,68	11,61	7,55	1,83
iPTH (ng/L)	14,84	2715,00	195,32	360,59
Cr (μmol/L)	54,00	1087,00	296,71	276,06
eGFR (ml/min/1,73m²)	3,00	110,00	40,59	31,15
25(OH)D (ng/mL)	16,50	39,60	32,68	4,35
FGF23 (ng/L)	41,07	286,29	80,49	43,34
Sclerostin (ng/mL)	0,23	2,12	1,67	0,44
IMT (mm)	0,60	2,00	1,10	0,20

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Ca – серумски калцијум, P – серумску фосфат, СахР – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштана алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin- серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије.

Средње вриједности укупног калцијума и фосфата у серуму испитиване популације пацијентата биле су у оквиру референтних (Табела 5).

5.2. Анализа концентрација *CKD-MBD* параметара у односу на стадијум хроничне бубрежне болести

У односу на стадијум болести, вриједности серумског фосфата код пацијената у стадијуму 5 ХББ су биле благо повишене. Производ серумског калцијума и фосфата, као и вриједности интактног паратиреоидног хормона, су показали тренд раста са прогресијом ХББ (Табела 6). У свим стадијумима болести, вриједности 25(OH)D су биле изнад 30 ng/mL.

Средња вриједност *FGF23* у нашој популацији пацијената била је $80,49 \pm 43,34$ ng/L, склеростина $1,67 \pm 0,44$ ng/mL, а *IMT* $1,10 \pm 0,20$ mm. Пацијенти су у свим стадијумима ХББ имали повишене вриједности *FGF23* (Графикон 1), док су вриједности *IMT* показале пораст већ од почетне ХББ, односно од стадијума 2 ХББ.

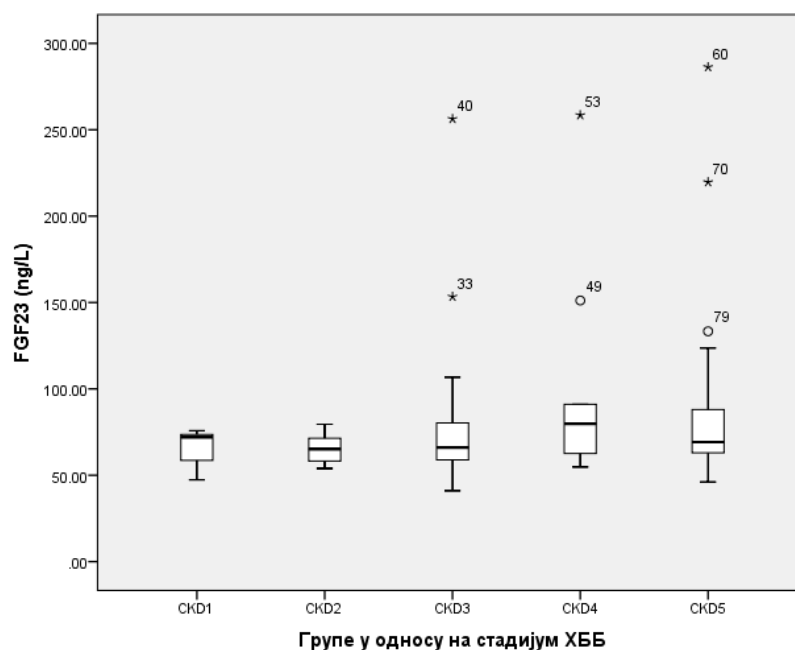
Табела 6: Вриједности *CKD-MBD* параметара и интима-медија комплекса у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

	<i>CKD1</i>	<i>CKD2</i>	<i>CKD3</i>	<i>CKD4</i>	<i>CKD5</i>	<i>p</i>
<i>Ca</i> (mmol/L)	2,25±0,06	2,36±0,10	2,38±0,09	2,23±0,18	2,37±0,31	0,24
<i>P</i> (mmol/L)	0,99±0,15	1,02±0,19	1,16±0,14	1,34±0,28	1,55±0,32	<0,001
<i>SaxP</i> (mmol ² /L ²)	2,25±0,35	2,43±0,48	2,77±0,35	2,98±0,56	3,69±0,92	<0,001
<i>ALP</i> (U/L)	80,01±36,35	71,05±26,34	84,71±50,17	112,73±41,19	106,93±61,15	0,06
<i>BALP</i> (μg/L)	8,31±1,59	7,98±1,38	7,87±1,83	7,08±1,99	6,96±2,01	0,14
<i>iPTH</i> (ng/L)	56,47±26,53	64,72±18,13	69,64±29,73	204,23±106,10	400,24±556,92	<0,05
<i>25(OH)D</i> (ng/mL)	32,76±3,33	32,27±5,82	33,67±3,70	32,83±5,41	32,24±3,56	0,82
<i>FGF23</i> (ng/L)	67,03±11,50	65,72±8,14	81,56±48,11	102,37±65,09	87,14±49,70	0,18
<i>Sclerostin</i> (ng/mL)	1,79±0,20	1,82±0,33	1,70±0,39	1,68±0,38	1,51±0,57	0,15
<i>IMT</i> (mm)	0,80±0,20	1,10±0,20	1,10±0,30	1,00±0,20	1,20±0,30	<0,01

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, *Ca* – серумски калцијум, *P* – серумску фосфат, *SaxP* – производ серумског калцијума и фосфата, *ALP* – алкална фосфатаза, *BALP* – коштана алкална фосфатаза, *iPTH* – интактни паратиреоидни хормон, *25(OH)D* – 25-хидрокси-витамин D, *FGF23* – фибробластни фактор раста 23, *Sclerostin* – серумски склеростин, *IMT* – средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. Вриједности су приказане као средња вриједност ± стандардна девијација.

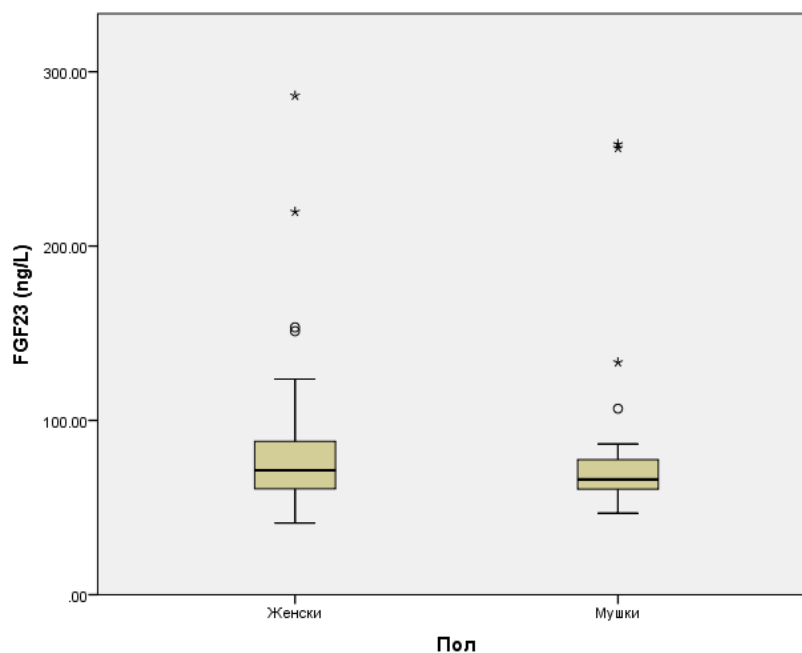
Групе ХББ су се статистички значајно разликовале у односу на средњу вриједност интактног паратиреоидног хормона, као и високо статистички значајно у односу на средње вриједности серумског фосфата, производа серумског калцијума и фосфата и дебљине интима-медија комплекса (Табела 6).

Вриједности *FGF23* су показале тренд раста од стадијума 3 ХББ, али се нису статистички значајно разликовале међу стадијумима ХББ у испитиваној популацији.

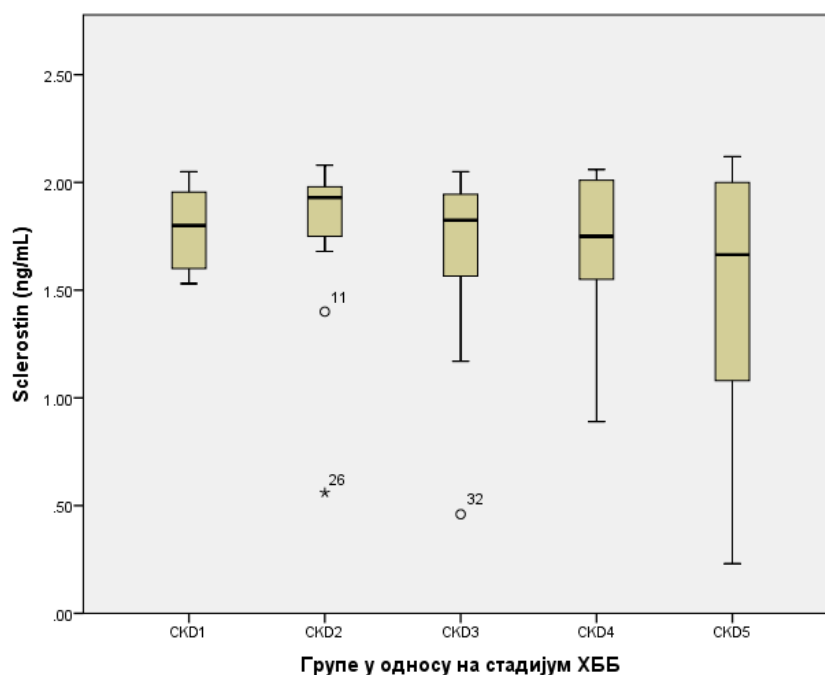


Графикон 1: Вриједности серумског *FGF23* у односу на стадијум хроничне бубрежне болести. *CKD* (*chronic kidney disease*) – хронична бубрежна болест.

Није показана значајна статистичка разлика између средњих вриједности *FGF23* у односу на пол испитиване популације пацијената. (Графикон 2).

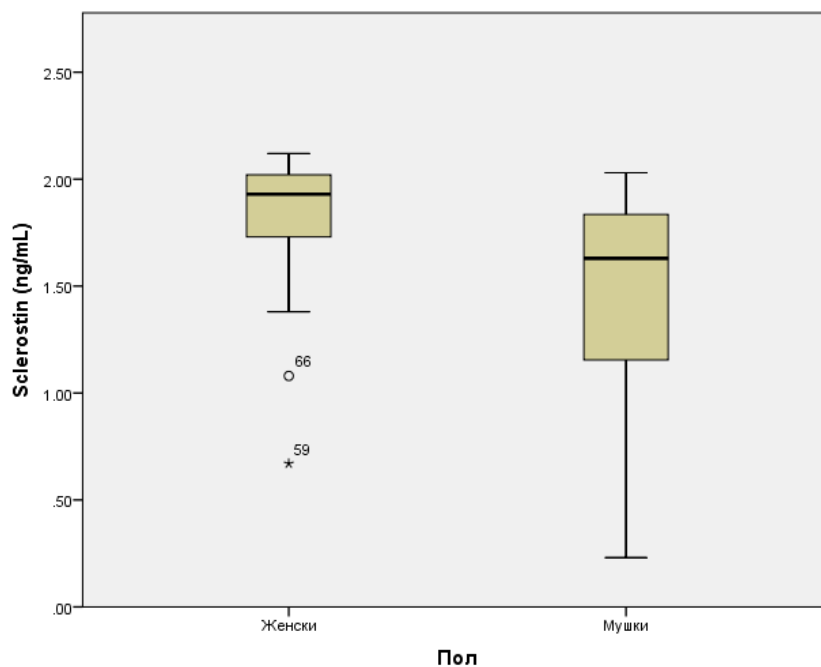


Графикон 2: Вриједности серумског *FGF23* у односу на пол пацијената.



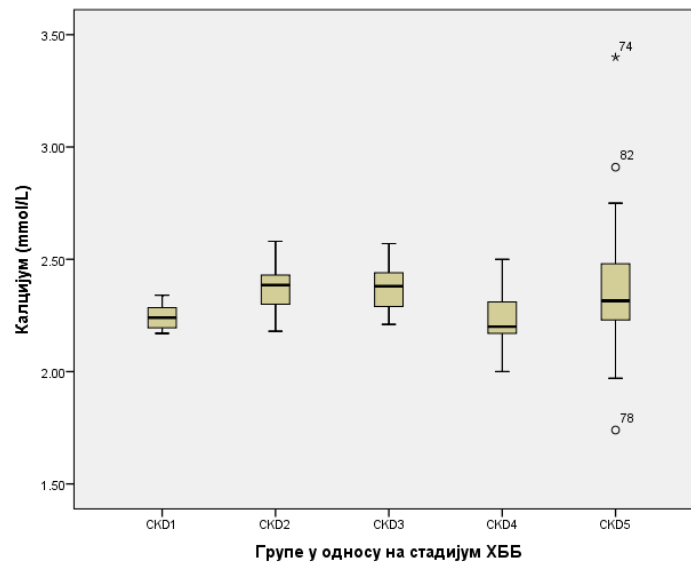
Графикон 3: Вриједности серумског склеростина у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

Средње вриједности серумског склеростина су биле ниже у узрапредовалој ХББ, али без статистички значајне разлике у односу на почетну ХББ (Графикон 3).



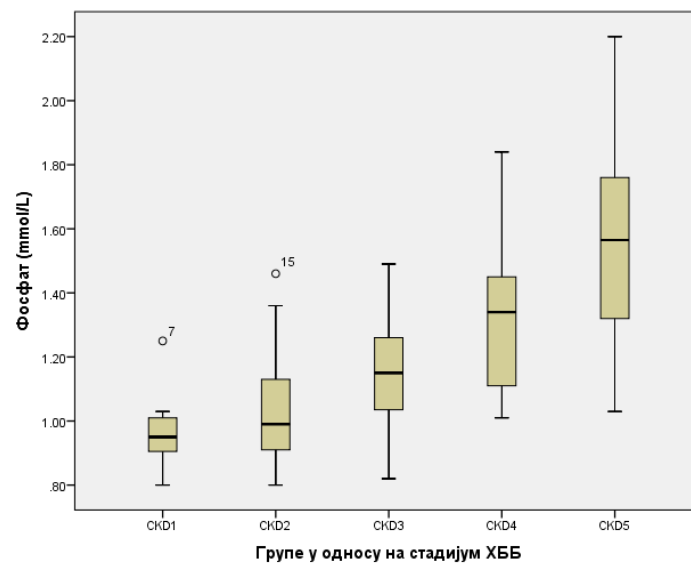
Графикон 4: Вриједности серумског склеростина у односу на пол пацијената.

Код пацијената женског пола вриједности серумског склеростина су биле статистички значајно више у односу на пацијенте мушког пола (Графикон 4).

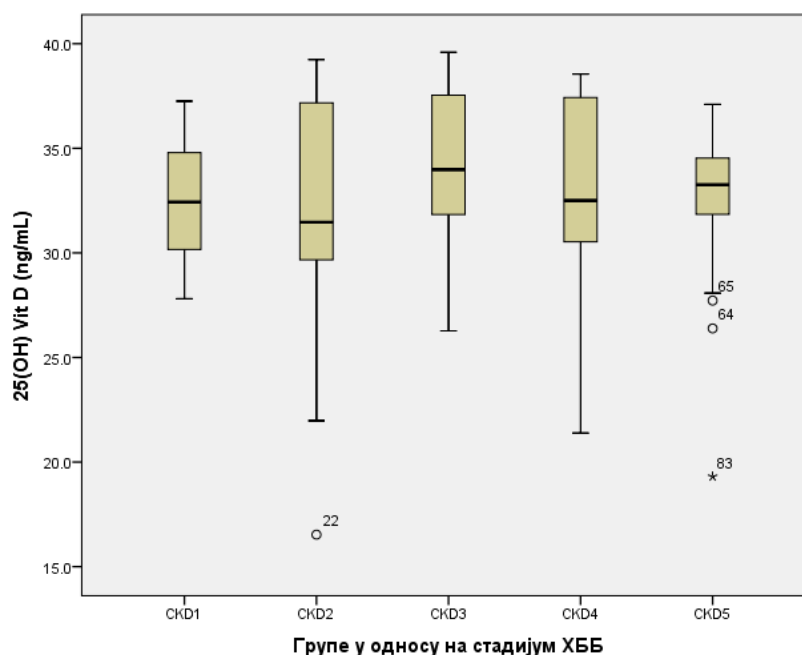


Графикон 5: Вриједности серумског калцијума у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

Анализирајући према стадијуму ХББ, серумски калцијум је показао тренд пораста вриједности од стадијума 1 према стадијуму 3, а потом су вриједности биле ниже у стадијуму 4 и 5 (Графикон 5). За разлику од калцијума, фосфат је показао тренд линеарног пораста вриједности са прогресијом ХББ (Графикон 6).

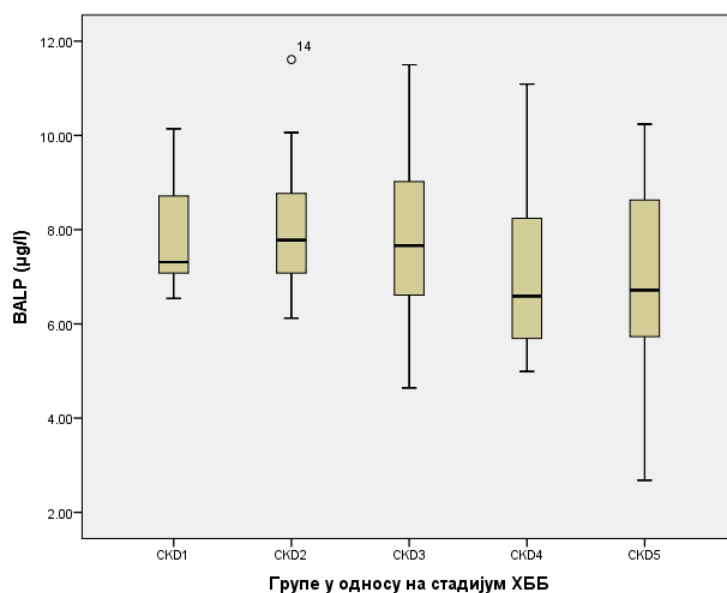


Графикон 6: Вриједности серумског фосфата у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.



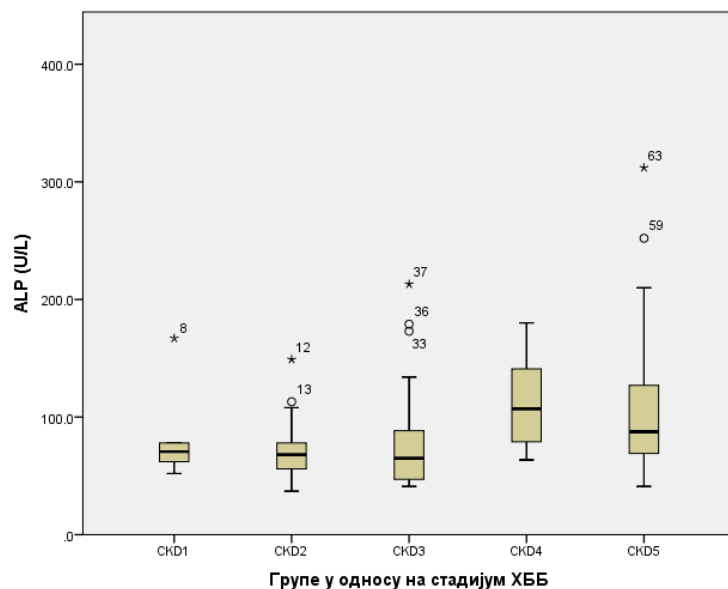
Графикон 7: Вриједности 25-хидрокси-витамина *D* у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

Иако су средње вриједности 25-хидрокси-витамина *D* биле у референтним вриједностима у свим стадијумима ХББ, графичком анализом се уочава да су од стадијума 2 ниже вриједности 25-хидрокси-витамина *D* од препоручених пратиле прогресију ХББ (Графикон 7).



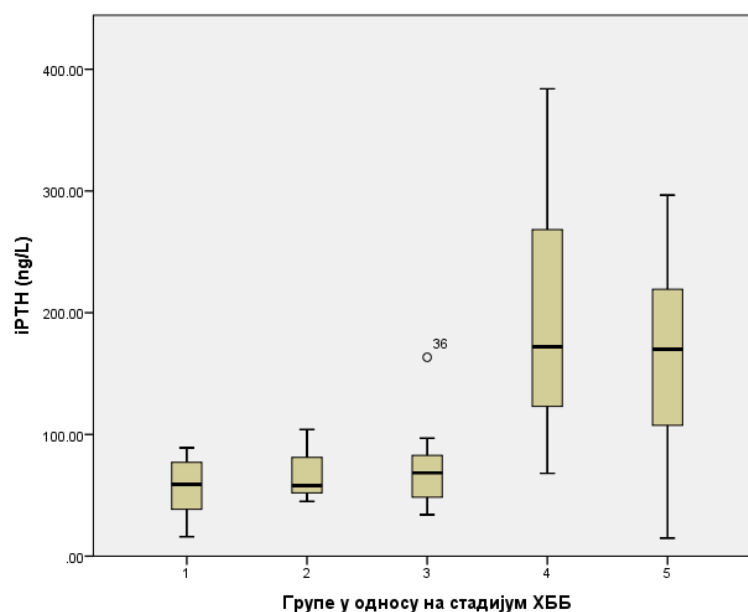
Графикон 8: Вриједности коштане-специфичне алкалне фосфатазе у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

Пацијенти стадијума 4 и 5 су имали ниже средње вриједности коштаноспецифичне алкалне фосфатазе, а више вриједности укупне алкалне фосфатазе у односу на пацијенте стадијума 1-3 (Графикони 8 и 9).



Графикон 9: Вриједности алкалне фосфатазе у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

Пацијенти у стадијуму 4 и 5 су имали значајно више вриједности интактног паратиреоидног хормона у односу на стадијуме 1-3 (Графикон 10).



Графикон 10: Вриједности интактног паратиреоидног хормона у односу на стадијум хроничне бубрежне болести.

5.3. Анализа повезаности између *CKD-MBD* параметара

Табела 7: Корелациони матрикс *CKD-MBD* параметара.

	FGF23	Sclerostin	Ca	P	CaxP	ALP	BALP	iPTH	25(OH)D	Cr	eGFR	CCI
FGF23												
Sclerostin	r= 0,04											
Ca	r= -0,02	r= -0,18										
P	r= 0,06	r= -0,20	r= 0,06									
CaxP	r= 0,05	r= -0,25*	r= 0,43***	r= 0,93***								
ALP	r= 0,02	r= -0,25*	r= -0,14	r= 0,35**	r= 0,25*							
BALP	r= 0,10	r= 0,13	r= -0,01	r= -0,27*	r= -0,26*	r= -0,11						
iPTH	r= -0,02	r= -0,22*	r= 0,18	r= 0,41***	r= 0,46***	r= 0,35***	r= -0,37***					
25(OH)D	r= 0,01	r= 0,07	r= 0,01	r= 0,11	r= 0,10	r= 0,06	r= 0,01	r= 0,05				
Cr	r= 0,21*	r= -0,29**	r= 0,04	r= 0,69***	r= 0,65***	r= 0,21*	r= -0,25*	r= 0,34***	r= -0,03			
eGFR	r= -0,23*	r= 0,23*	r= -0,03	r= -0,68***	r= -0,63***	r= -0,28**	r= 0,28*	r= -0,28***	r= 0,02	r= 0,80***		
CCI	r= 0,06	r= -0,09	r= -0,01	r= 0,21	r= 0,18	r= 0,24*	r= -0,10	r= 0,26*	r= 0,05	r= 0,28**	r= -0,37***	
Године	r= 0,03	r= 0,14	r= 0,21*	r= -0,12	r= -0,12	r= -0,17	r= 0,05	r= -0,05	r= 0,15	r= -0,15	r= -0,04	r= 0,13

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Ca – серумски калцијум, P – серумску фосфат, CaxP – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштане алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидроксид-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin- серумски склеростин, CCI (Charlson comorbidity index) – Чарлсонов индекс коморбидитета. *корелација је значајна при $p < 0,05$, **корелација је значајна при $p < 0,01$, *** корелација је значајна при $p < 0,001$.

Вриједности серумског *FGF23* су позитивно корелирале са вриједностима серумског креатинина и негативно са вриједностима процијењене јачине гломерулске филтрације. Склеростин је показао позитивну корелацију са процијењеном јачином гломерулске филтрације, а негативну са вриједностима *ALP*, *iPTH*, *CaxP* и *Cr* (Табела 7).

Серумски калцијум је показао позитивну корелацију са животном доби испитаника и очекивану високо значајну корелацију са производом калцијума и фосфата. Серумски фосфат је показао значајну позитивну корелацију са серумским креатинином, *CaxP*, *ALP* и *iPTH*, а негативну са *eGFR* и *BALP*.

Производ серумског калцијума и фосфата позитивно је корелирао са серумским креатинином, *ALP* и *iPTH*, а негативно са *eGFR* и *BALP*. Серумска алкална фосфатаза пратила је пораст *iPTH*, серумског креатинина и Чарлсоновог индекса коморбидитета. Погоршање бубрежне функције и већи број коморбидитета су били праћени повишеном вриједношћу паратиреоидног хормона. *BALP* је негативно корелирала са *iPTH* и вриједностима серумског креатинина. У испитиваној популацији пацијената, већи број коморбидитета је показао значајну позитивну повезаност са нижим вриједностима процијењене јачине гломерулске филтрације.

Табела 8: Вриједности *CKD-MBD* параметара и интима-медија комплекса у односу на вриједности *25(OH)D*.

	<i>25(OH)D</i> < 30 ng/mL <i>n</i> = 19	<i>25(OH)D</i> > 30 ng/mL <i>n</i> = 69	<i>p</i>
<i>Године</i>	58,95 ± 10,54	63,91 ± 11,43	0,09
<i>Ca (mmol/L)</i>	2,29 ± 0,17	2,36 ± 0,21	0,17
<i>P (mmol/L)</i>	1,22 ± 0,33	1,28 ± 0,33	0,47
<i>CaxP (mmol²/L²)</i>	2,79 ± 0,78	3,03 ± 0,85	0,27
<i>ALP (U/L)</i>	85,95 ± 36,63	93,26 ± 52,82	0,52
<i>BALP(μg/L)</i>	7,54 ± 1,99	7,55 ± 1,80	0,97
<i>iPTH (ng/L)</i>	151,87 ± 162,39	207,45 ± 398,90	0,55
<i>FGF23 (ng/L)</i>	80,64 ± 41,18	80,45 ± 44,21	0,99
<i>Sclerostin (ng/mL)</i>	1,67 ± 0,49	1,67 ± 0,43	0,99
<i>eGFR (ml/min/1,73m²)</i>	41,16 ± 33,94	40,3 ± 30,60	0,93
<i>Cr (μmol/L)</i>	304,00 ± 278,67	294,71 ± 277,36	0,90
<i>IMT (mm)</i>	1,07 ± 0,22	1,09 ± 0,26	0,82

Скраћенице: CKD-MBD (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Са – серумски калцијум, Р – серумску фосфат, СахР – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштане алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin- серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. Вриједности су приказане као средња вриједност ± стандардна девијација.

У односу на измјерене вриједности 25(OH)D, пацијенти су подијељени у двије групе. Прву групу су чинили пацијенти који су имали вриједности 25(OH)D < 30 ng/mL, односно недовољне (инсуфицијентне) вриједности. Другу групу су чинили пацијенти са вриједностима 25(OH)D > 30 ng/mL, односно који су имали нормалне вриједности. У испитиваној популацији није било пацијената са вриједностима 25(OH)D < 15 ng/mL, односно са дефицитом 25(OH)D. 19 пацијената (21,6%) је имало недовољне вриједности 25(OH)D, а 69 пацијената (78,4%) је имало вриједности 25(OH)D > 30 ng/mL.

29 пацијената (33%) је узимало терапију витамином D, 59 пацијената (67%) није имало витамин D у терапији. Вриједности 25(OH)D се нису статистички значајно разликовале између пацијената који су узимали терапију витамином D ($33,38 \pm 2,85$ ng/mL) и пацијената без терапије ($32,46 \pm 4,71$ ng/mL) ($p=0,07$).

У односу на вриједности 25(OH)D, није било статистички значајне разлике у вриједносима CKD-MBD параметара и дебљине интима-медија комплекса (Табела 8).

Вриједности 25(OH)D су анализиране и у односу на присуство дијабетес мелитуса. Пацијенти са дијабетесом су имали вриједности 25(OH)D $33,71 \pm 3,92$ ng/mL, док пацијенти без дијабетеса имали вриједности $32,00 \pm 4,51$ ng/mL. Између ових група није било статистички значајне разлике у вриједностима 25(OH)D ($p=0,07$).

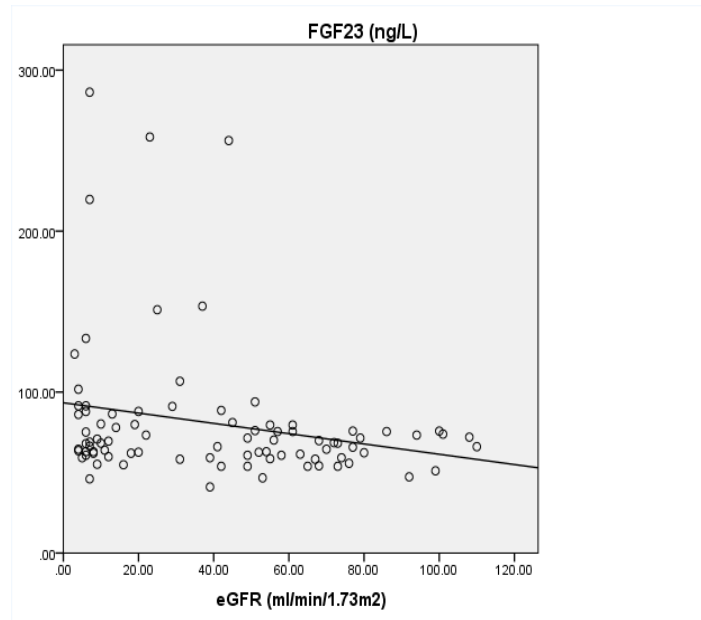
Табела 9: Вриједности *CKD-MBD* параметара и интима-медија комплекса у односу на вриједности паратиреоидног хормона.

	<i>iPTH</i> <150 ng/L	<i>iPTH</i> 150-600 ng/L	<i>iPTH</i> >600 ng/L	<i>p</i>
Ca (mmol/L)	2,36 ± 0,18	2,26 ± 0,22	2,53 ± 0,28	<0,05
P (mmol/L)	1,16 ± 0,27	1,43 ± 0,30	1,73 ± 0,32	<0,001
СахР (mmol²/L²)	2,73 ± 0,67	3,24 ± 0,78	4,39 ± 0,99	<0,001
ALP (U/L)	83,60 ± 46,97	104,03 ± 48,69	125,00 ± 67,98	0,06
BALP(μg/L)	7,96 ± 1,61	6,64 ± 1,79	6,27 ± 2,21	<0,05
25(OH)D (ng/mL)	32,71 ± 4,94	32,42 ± 2,95	33,00 ± 2,88	0,95
Cr (μmol/L)	184,31 ± 213,99	542,35 ± 261,94	538,50 ± 109,67	<0,001
eGFR (ml/min/1,73m²)	54,15 ± 28,04	11,64 ± 8,86	7,50 ± 2,34	<0,001
FGF23 (ng/L)	77,36 ± 40,21	90,46 ± 56,00	75,37 ± 12,96	0,47
Sclerostin (ng/mL)	1,73 ± 0,37	1,54 ± 0,56	1,51 ± 0,53	0,15
IMT (mm)	1,06 ± 0,20	1,12 ± 0,31	1,30 ± 0,30	<0,05

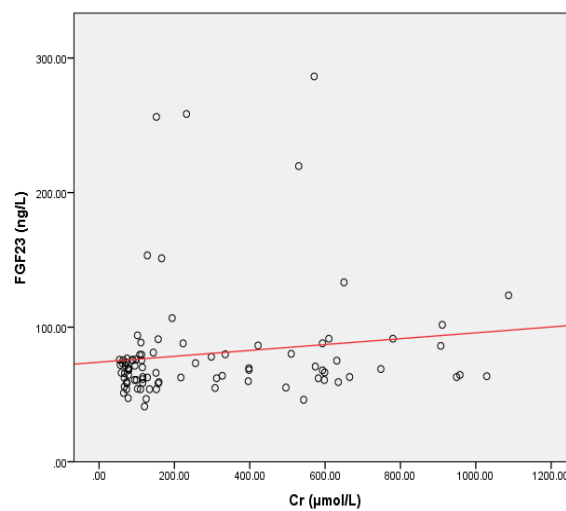
Скраћенице: CKD-MBD (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Са – серумски калцијум, Р – серумску фосфат, СахР – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштана алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin-серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. Вриједности су приказане као средња вриједност ± стандардна девијација.

У односу на вриједности паратиреоидног хормона, пацијенти са *iPTH* >600 ng/L су имали значајно више вриједности серумског калцијума, фосфата, производа калцијума и фосфата, дебљине интима-медија комплекса, серумског креатинина и процијењене јачине гломерулске филтрације у односу на пацијенте са нижим вриједностима паратиреоидног хормона (Табела 9).

Графикон 11 показује пораст вриједности серумског *FGF23* са погоршањем бубрежне функције испитаника.



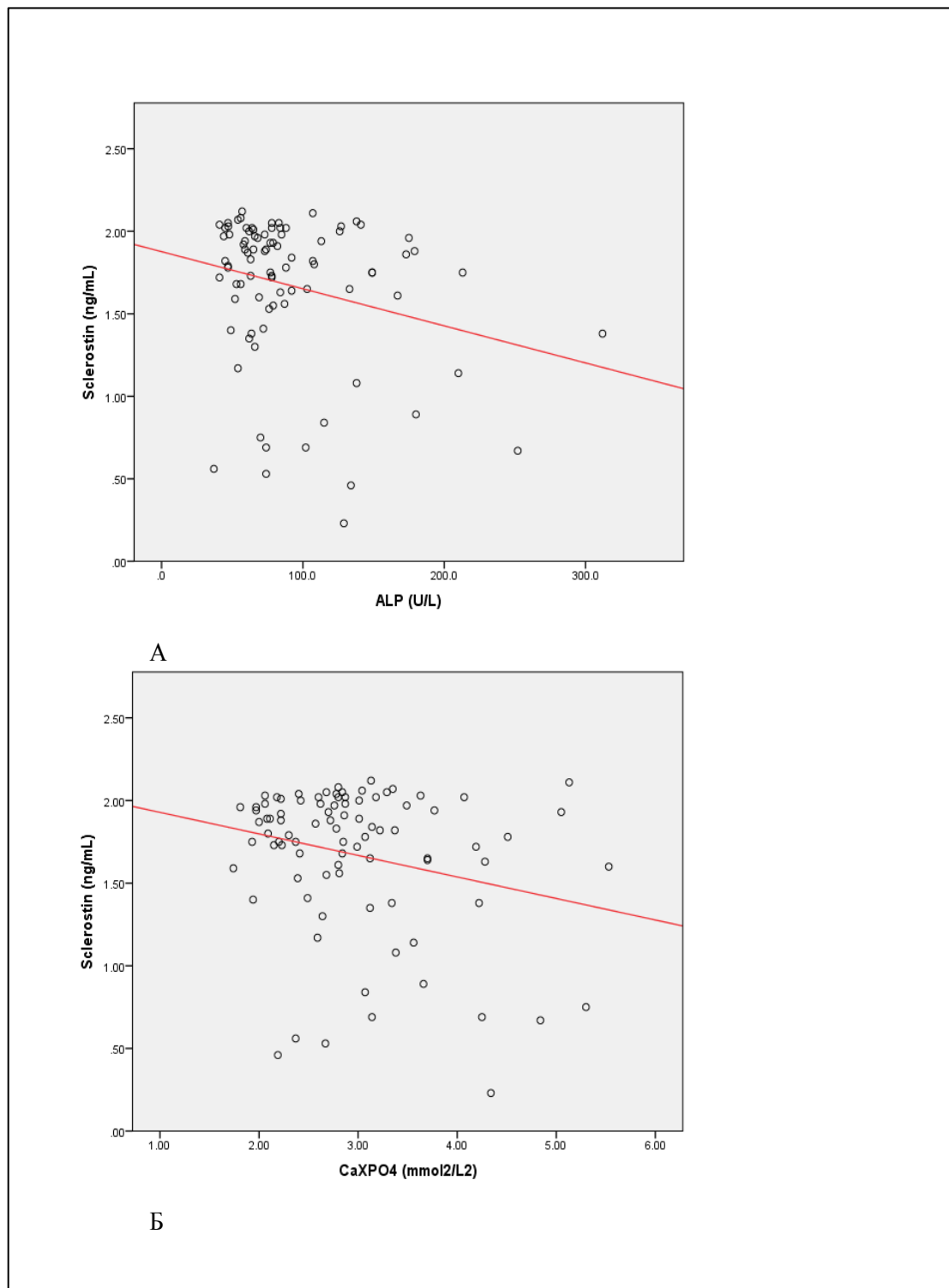
А



Б

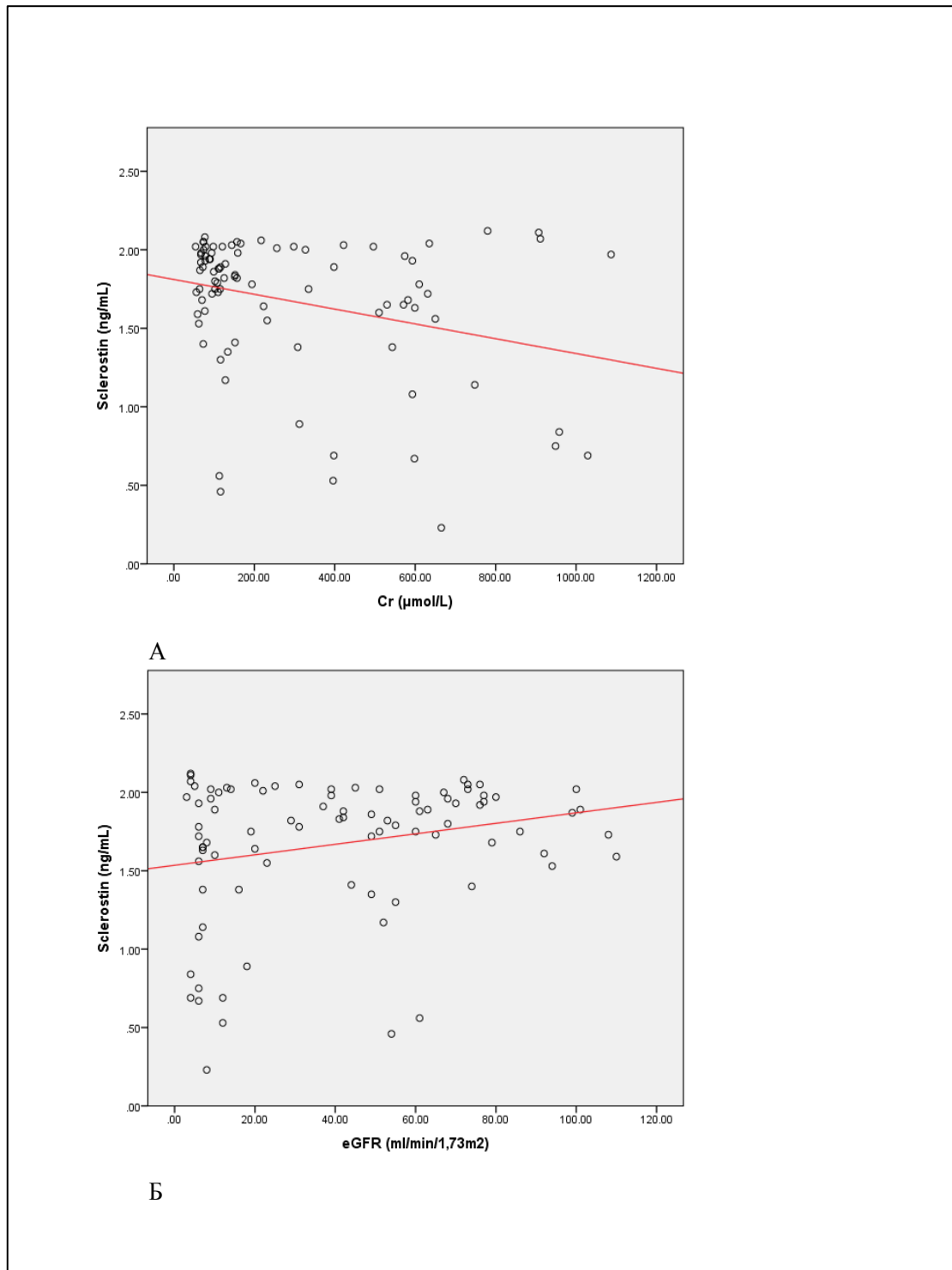
Графикон 11: Анализа повезаности између серумског *FGF23* и бубрежне функције испитаника. А - корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације (*eGFR*); Б - корелација са серумским креатинином (*Cr*).

Негативна, статистички значајна корелација између серумског склеростина и алкалне фосфатазе, односно производа серумског калцијума и фосфата је приказана на Графикону 12.



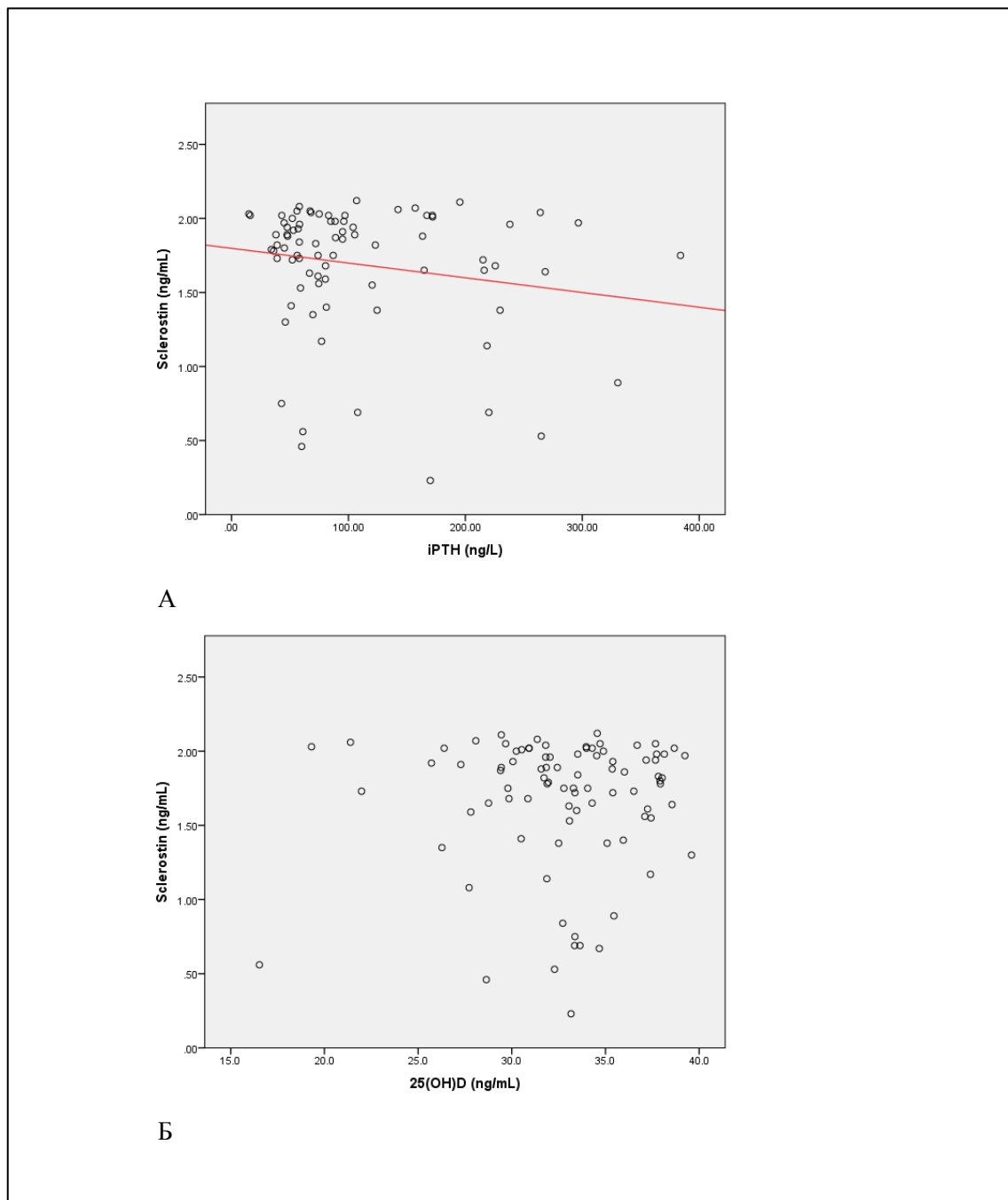
Графикон 12: Анализа повезаности између серумског склеростина и А – укупне алкалне фосфатазе и Б – прозвода серумског калцијума и фосфата.

У испитиваној популацији пацијената погоршање бубрежне функције је било праћено нижим вриједностима серумског склеростина (Графикон 13).



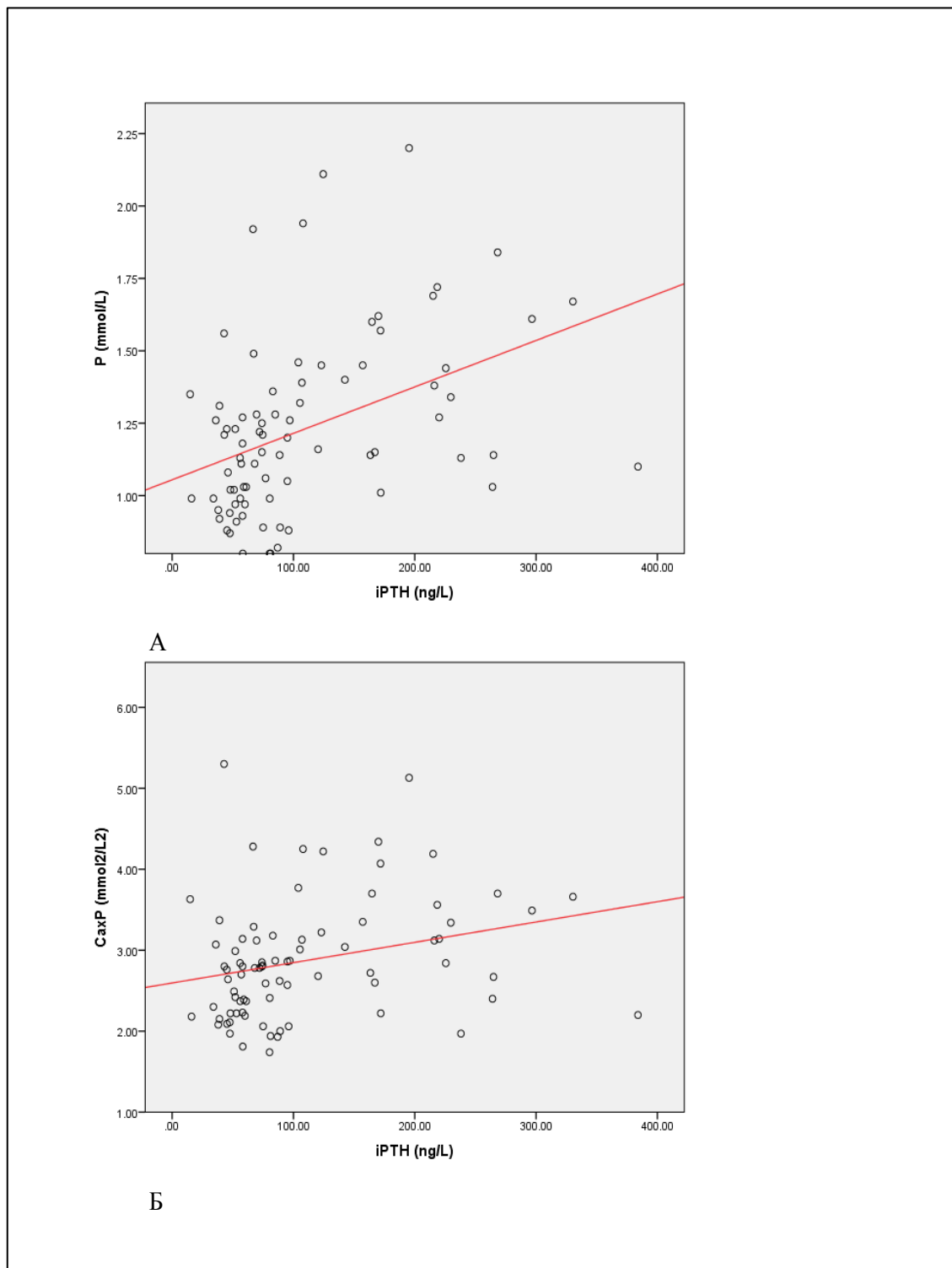
Графикон 13: Анализа повезаности између серумског склеростина и бубрежне функције испитаника. А- корелација са серумским креатинином (Cr); Б- корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације ($eGFR$).

Пораст вриједности интактног паратиреоидног хормона је био праћен смањењем серумског склеростина (Графикон 14А). Склеростин није показао корелацију са вриједностима 25(OH)D (Графикон 14Б).



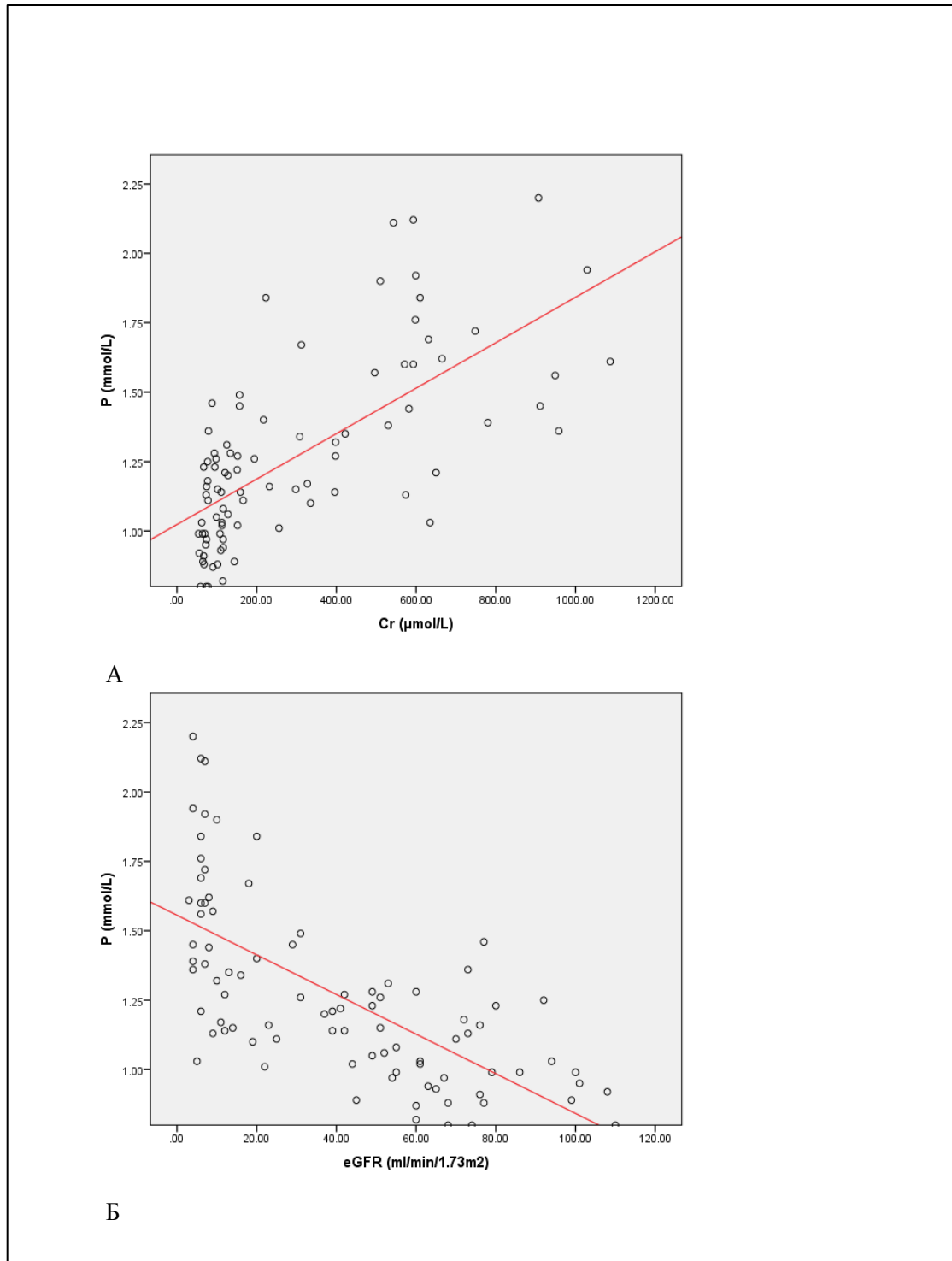
Графикон 14: Анализа повезаности између серумског склеростина и А - интактног паратиреоидног хормона (*iPTH*) и Б – витамина *D*.

Серумски фосфат, као и производ серумског калцијума и фосфата, је показао позитивну, статистички значајну, корелацију са нивоом интактног паратиреоидног хормона у серуму пацијената (Графикон 15).



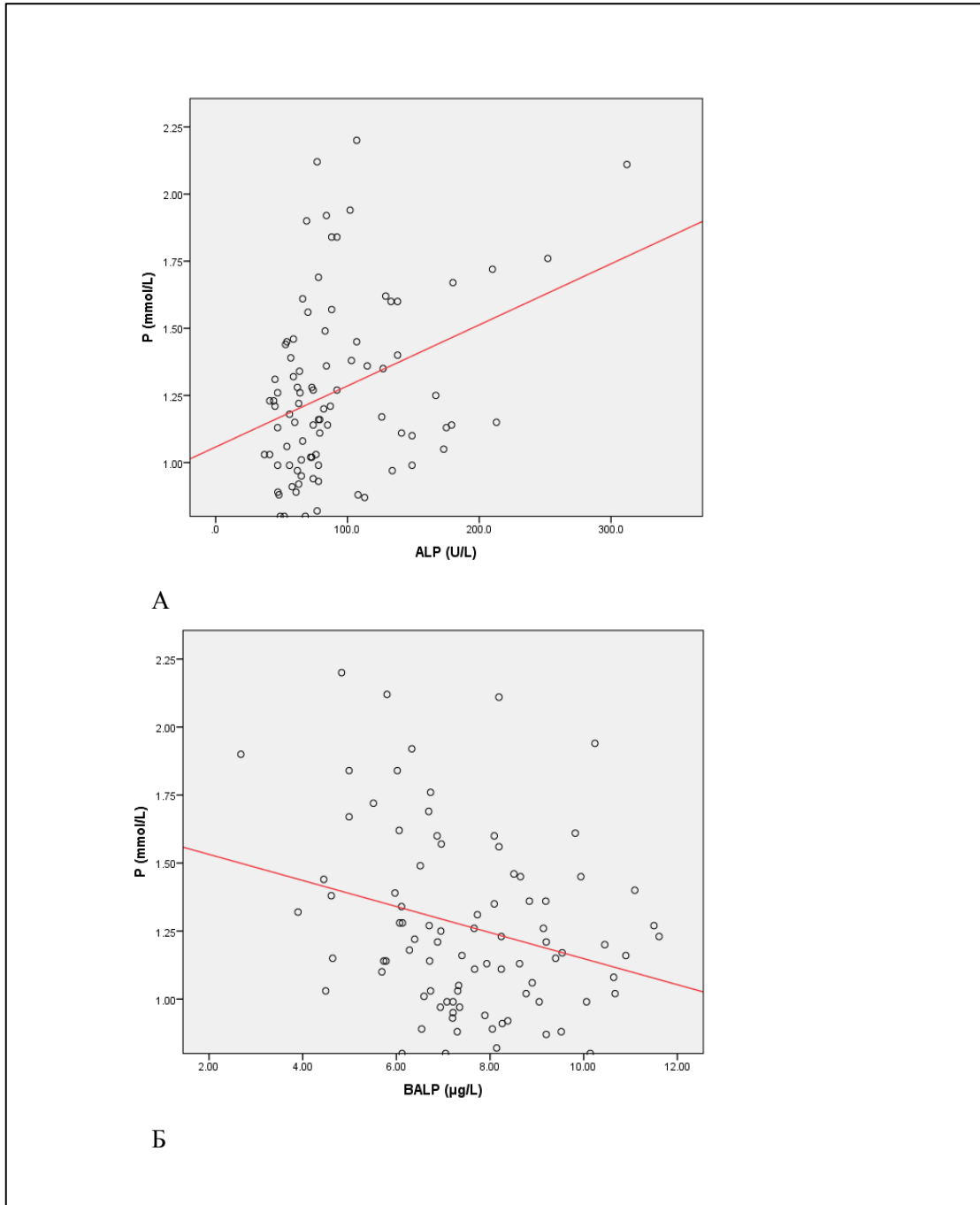
Графикон 15: Анализа повезаности између: А- серумског фосфата (P) и интактног паратиреоидног хормона ($iPTH$); Б – производа серумског калцијума и фосфата и интактног паратиреоидног хормона ($iPTH$).

Погоршање бубрежне функције је било праћено очекиваним порастом серумског фосфата (Графикон 16).



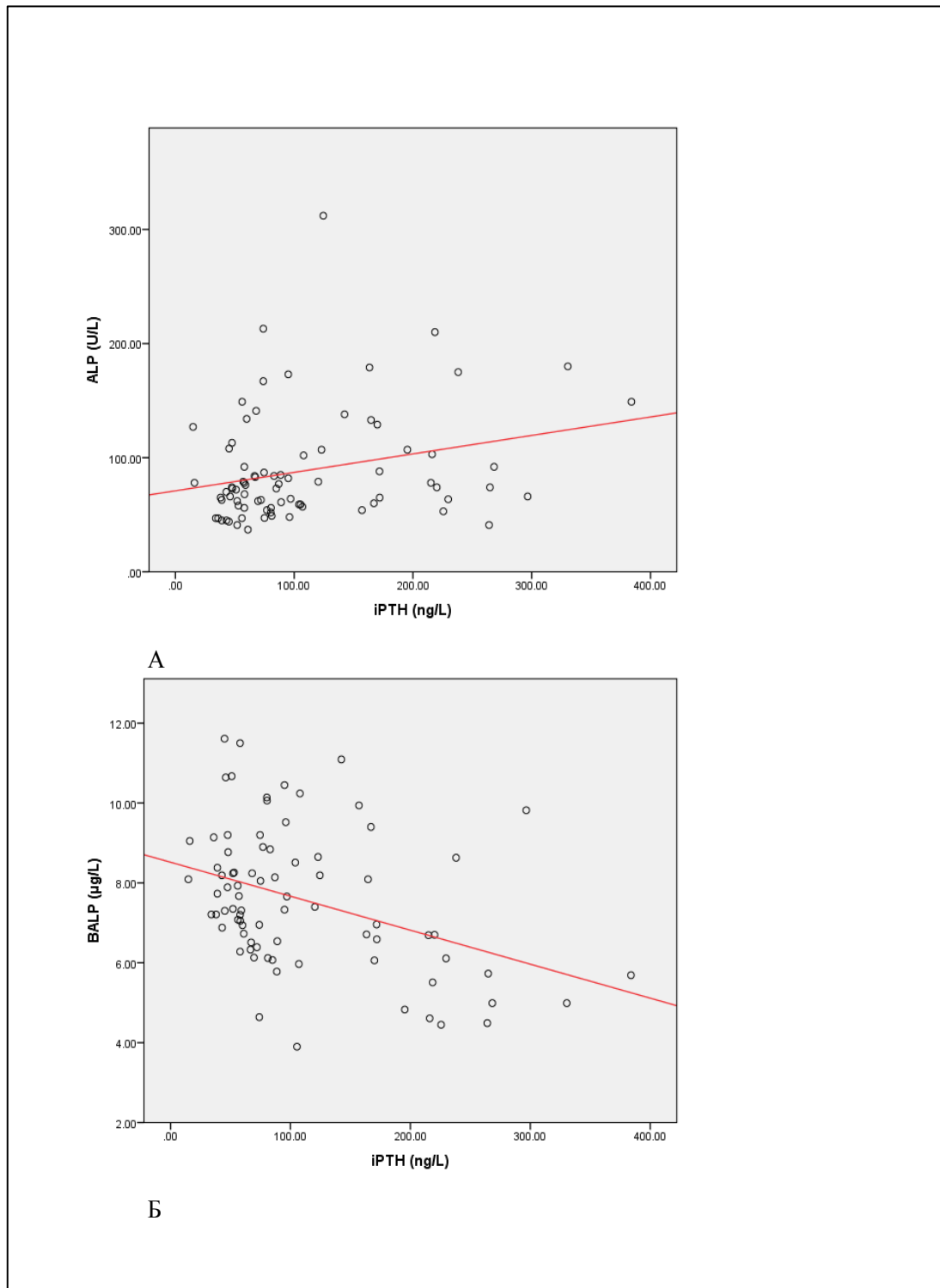
Графикон 16: Анализа повезаности између серумског фосфата (P) и бубрежне функције испитаника. А- корелација са серумским креатинином (Cr); Б- корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације ($eGFR$).

Хиперфосфатемија је била праћена повећаном активношћу укупне алкалне фосфатазе, али и смањеном активношћу коштане-специфичне алкалне фосфатазе (Графикон 17).



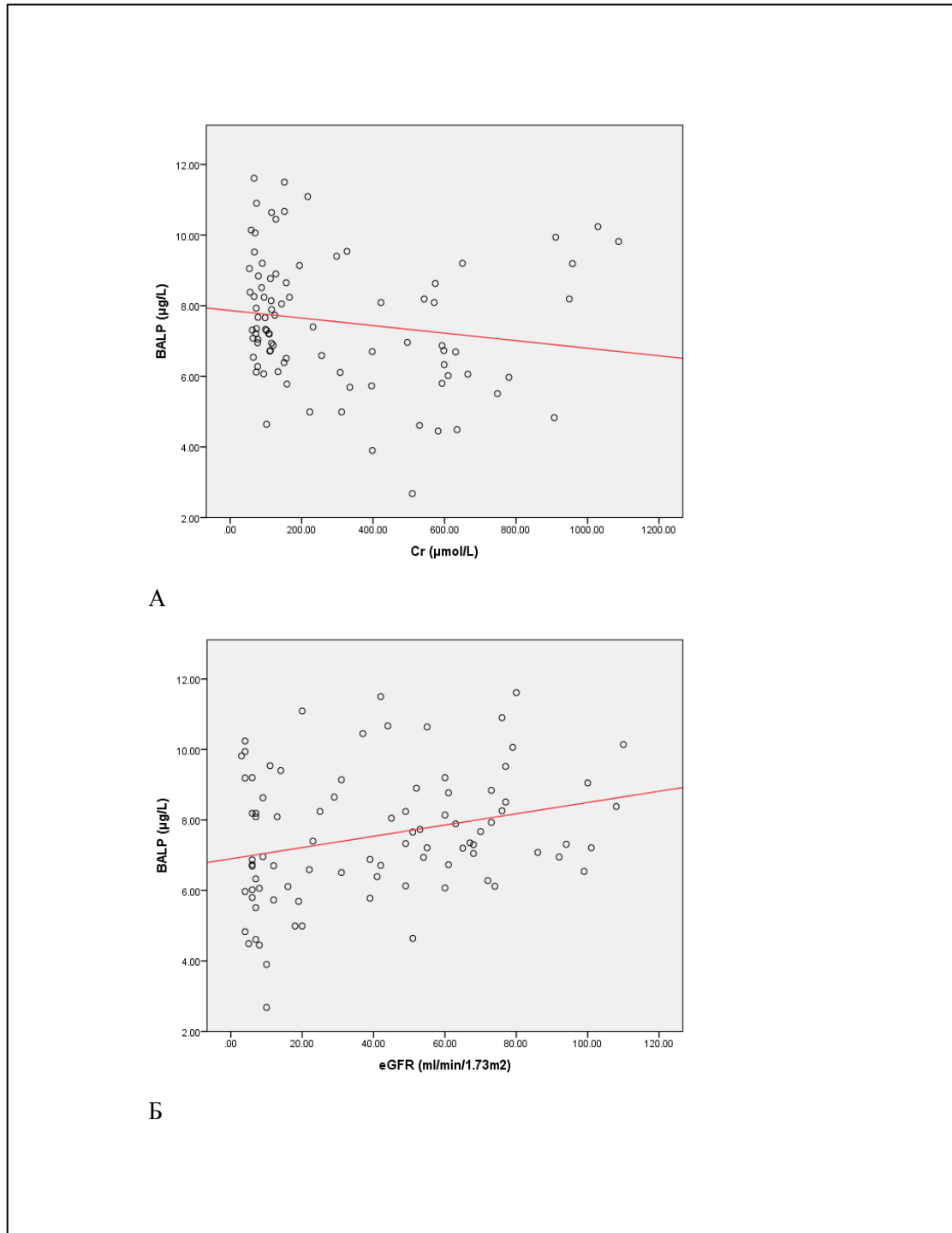
Графикон 17: Анализа повезаности између серумског фосфата (P) и А- укупне алкалне фосфатазе (ALP); Б- коштане-специфичне алкалне фосфатазе ($BALP$).

Повишене вриједности интактног паратиреоидног хормона су значајно корелирале са повећаном активношћу укупне алкалне фосфатазе и смањеном активношћу коштаноспецифичне алкалне фосфатазе (Графикон 18).



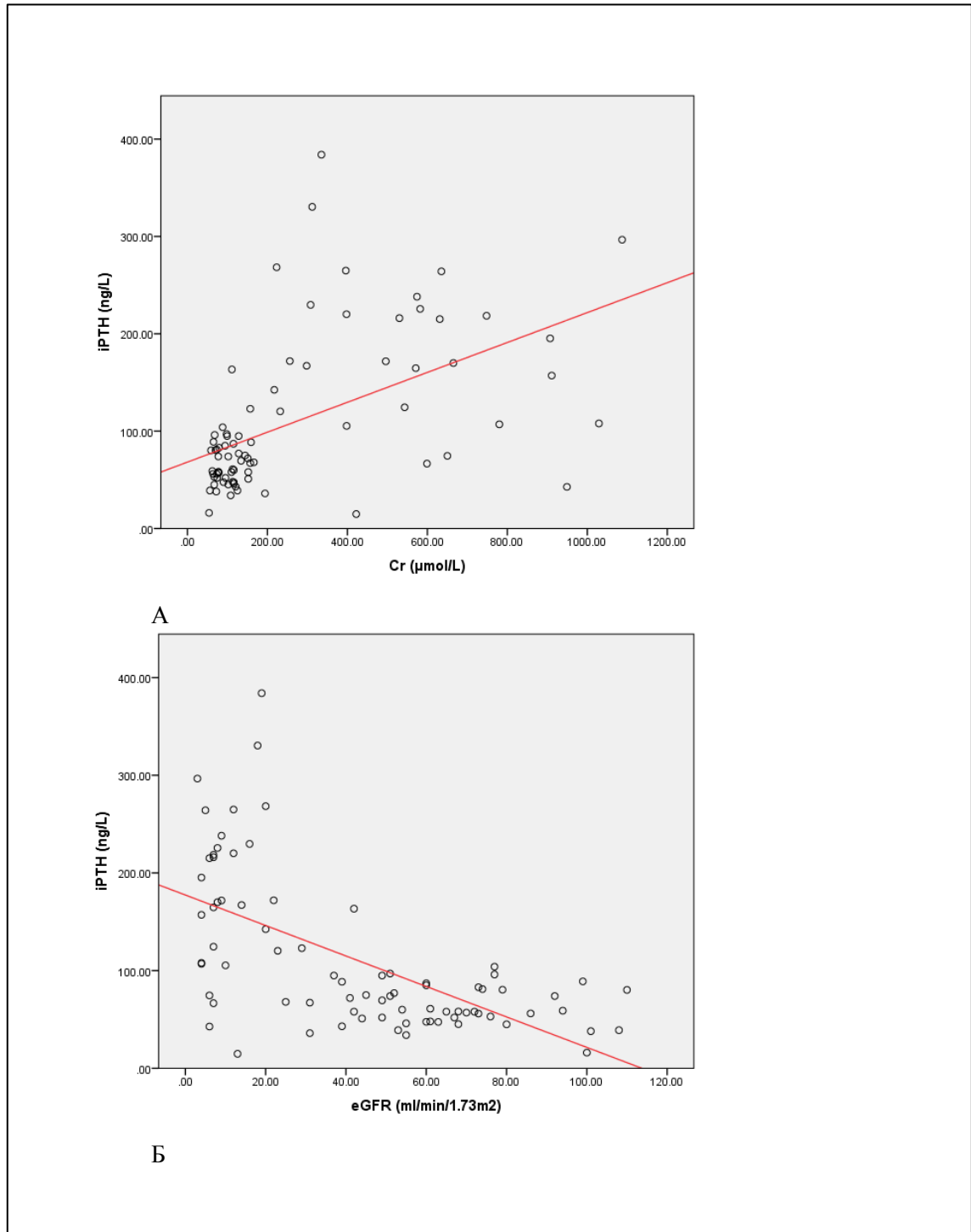
Графикон 18: Анализа повезаности између А- укупне алкалне фосфатазе (ALP) и Б- коштаноспецифичне алкалне фосфатазе (BALP) са интактним паратиреоидним хормоном (*iPTH*).

Пацијенти са бољом бубрежном функцијом су имали и већу активност коштане-специфичне алкалне фосфатазе у односу на пацијенте са узнапредовалом ХББ (Графикон 19).



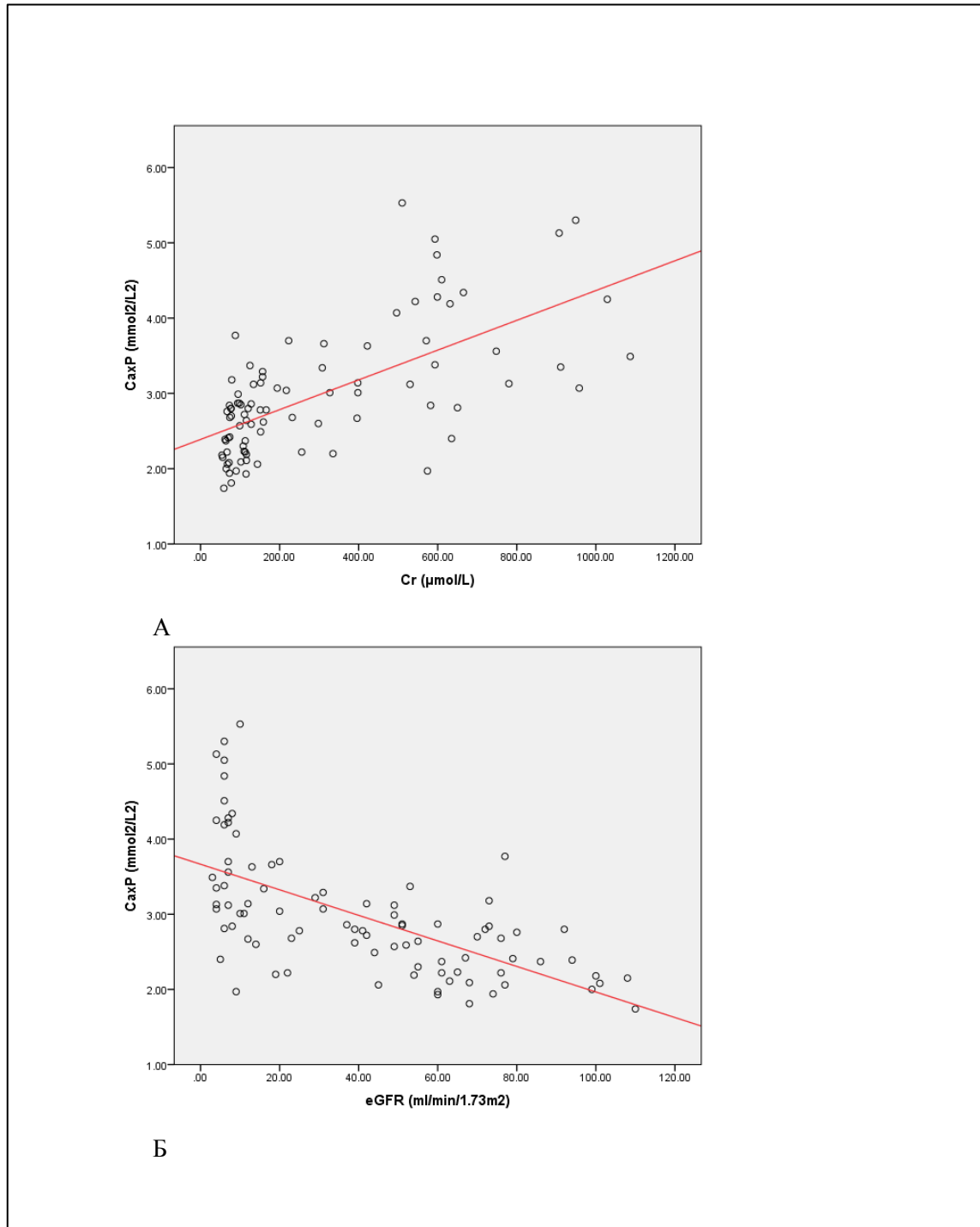
Графикон 19: Анализа повезаности између коштане-специфичне алкалне фосфатазе (BALP) и бубрежне функције испитаника. А- корелација са серумским креатинином (Cr); Б- корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације (eGFR).

Погоршање бубрежне функције је било праћено и повећаном активношћу паратиреоидних жлијезда, израженом кроз ниво интактног паратиреоидног хормона (Графикон 20).



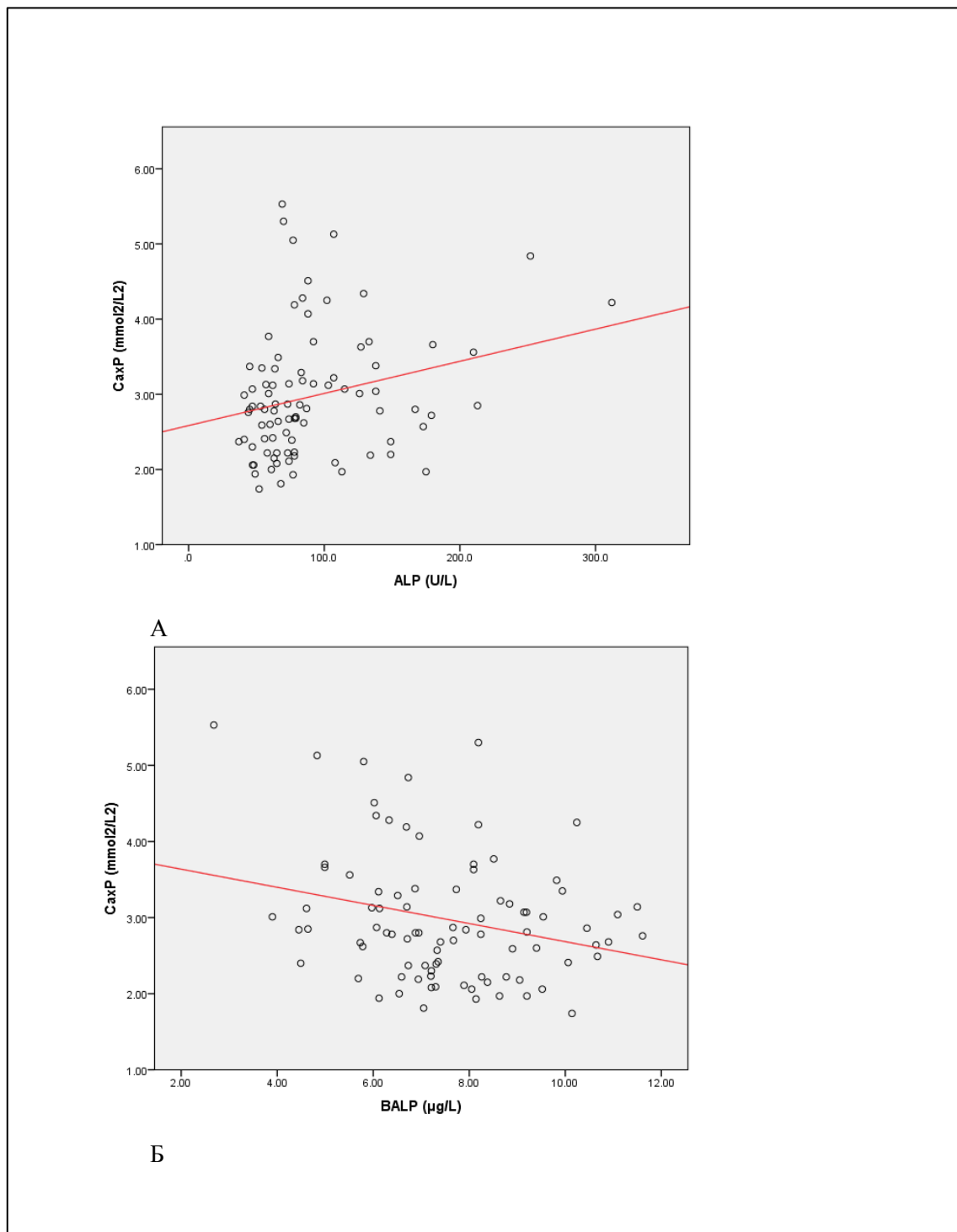
Графикон 20: Анализа повезаности између интактног паратиреоидног хормона (iPTH) и бубрежне функције испитаника. А- корелација са серумским креатинином (Cr); Б- корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације (eGFR).

Као што је било и очекивано, пацијенти са лошијом бубрежном функцијом су имали веће вриједности производа серумског калцијума и фосфата (Графикон 21).



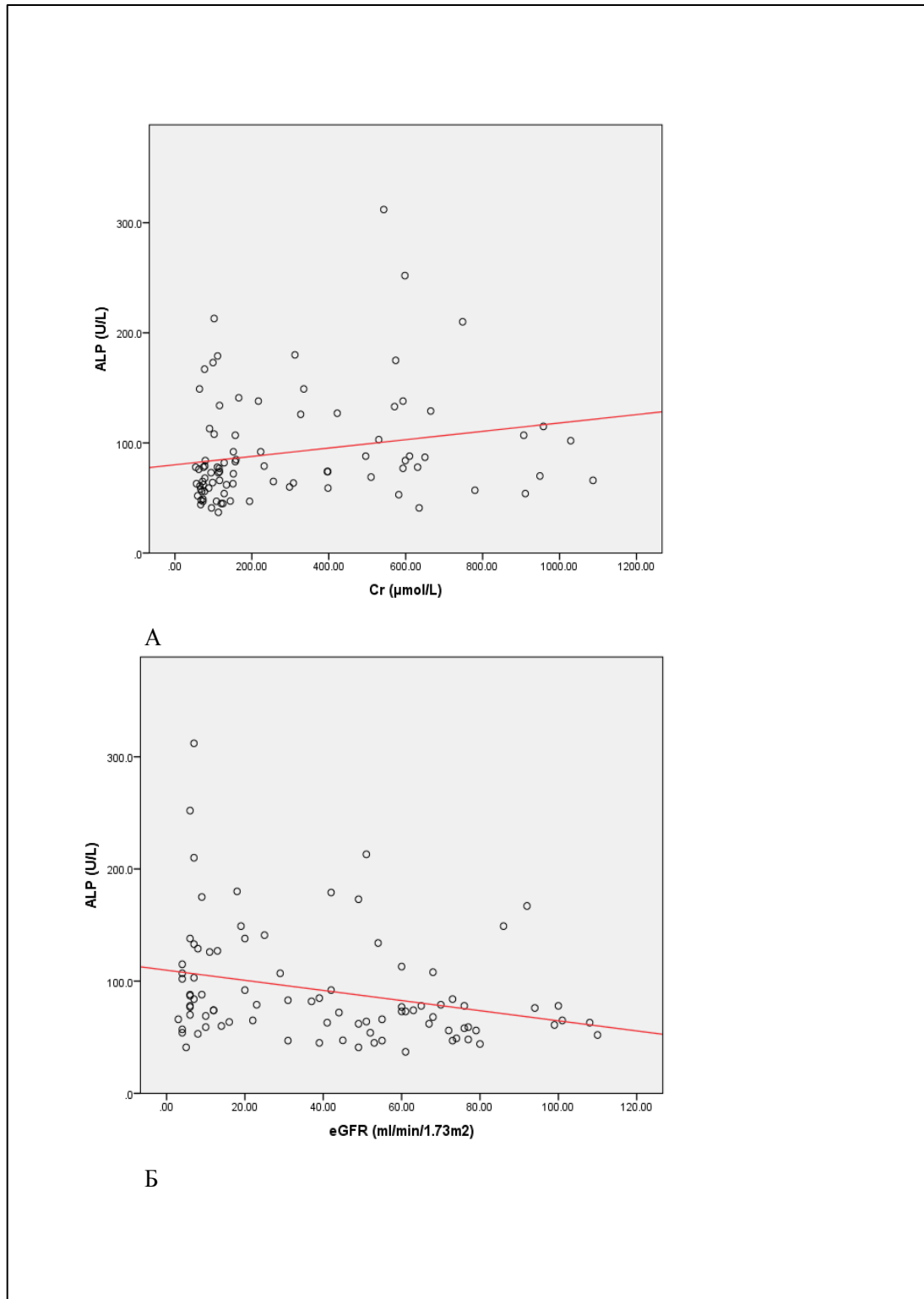
Графикон 21: Анализа повезаности између производа серумског калцијума и фосфата ($Ca \times P$) и бубрежне функције испитаника. А- корелација са серумским креатинином (Cr); Б- корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације ($eGFR$).

Више вриједности производа серумског калцијума и фосфата су испраћене повећаном активношћу укупне алкалне фосфатазе и смањеном активношћу коштаног - специфичне алкалне фосфатазе (Графикон 22).



Графикон 22: Анализа повезаности између производа серумског калцијума и фосфата ($Ca \times P$) и А- укупне алкалне фосфатазе (ALP); Б- коштаног-специфичне алкалне фосфатазе (BALP).

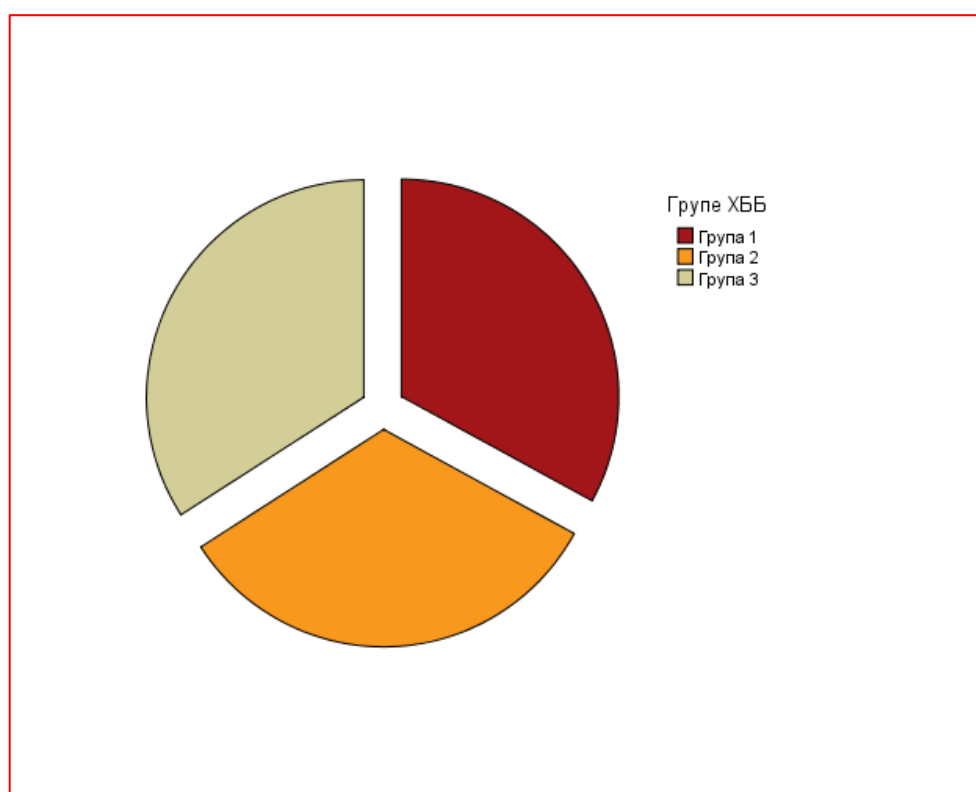
Пацијенти са лошијом бубрежном функцијом су имали више вриједности укупне алкалне фосфатазе у серуму (Графикон 23).



Графикон 23: Анализа повезаности између укупне алкалне фосфатазе (ALP) и бубрежне функције испитаника. А- корелација са серумским креатинином (Cr); Б- корелација са процијењеном јачином гломерулске филтрације (eGFR).

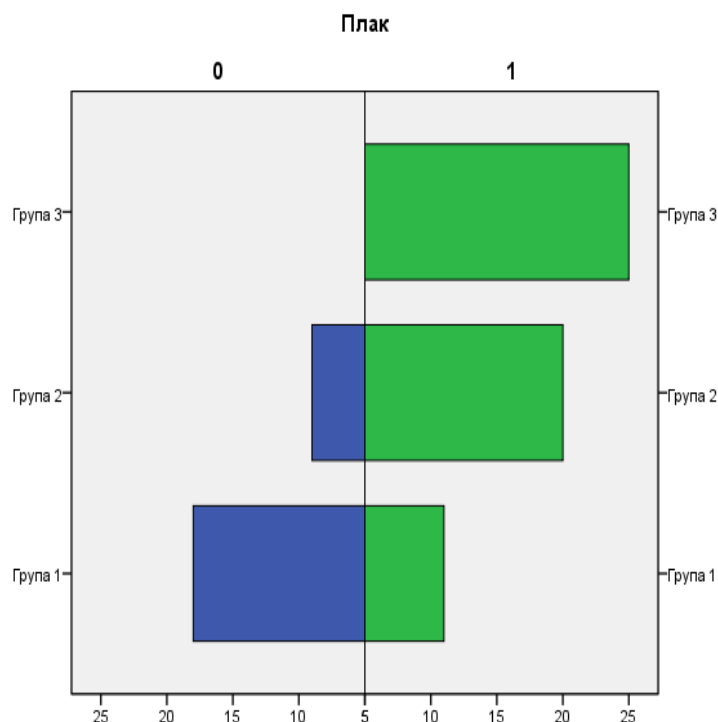
5.4. Испитивање разлике у вриједностима *CKD-MBD* параметара у односу на групе болести – почетна, манифестна и терминална бубрежна болест

Све три групе хроничне болести бубрега су имале уједначен број испитаника (Дијаграм 5).



Дијаграм 5: Заступљеност пацијената у односу на групу хроничне болести бубрега.

Код наших пацијената, учесталост атеросклеротских плакова у каротидним артеријама је износила 63,6%, односно плакови су регистровани код 56 пацијената. Пацијенти са манифестном и терминалном хроничном бубрежном болешћу су чешће имали присутне атеросклеротске плакове у каротидним артеријама у односу на пацијенте са поченом бубрежном болешћу (Дијаграм 6).



Дијаграм 6: Присуство атеросклеротског плака у каротидним артеријама у односу на групу бубрежне болести. Зелена боја – присутан плак, плава боја – осуство плака.

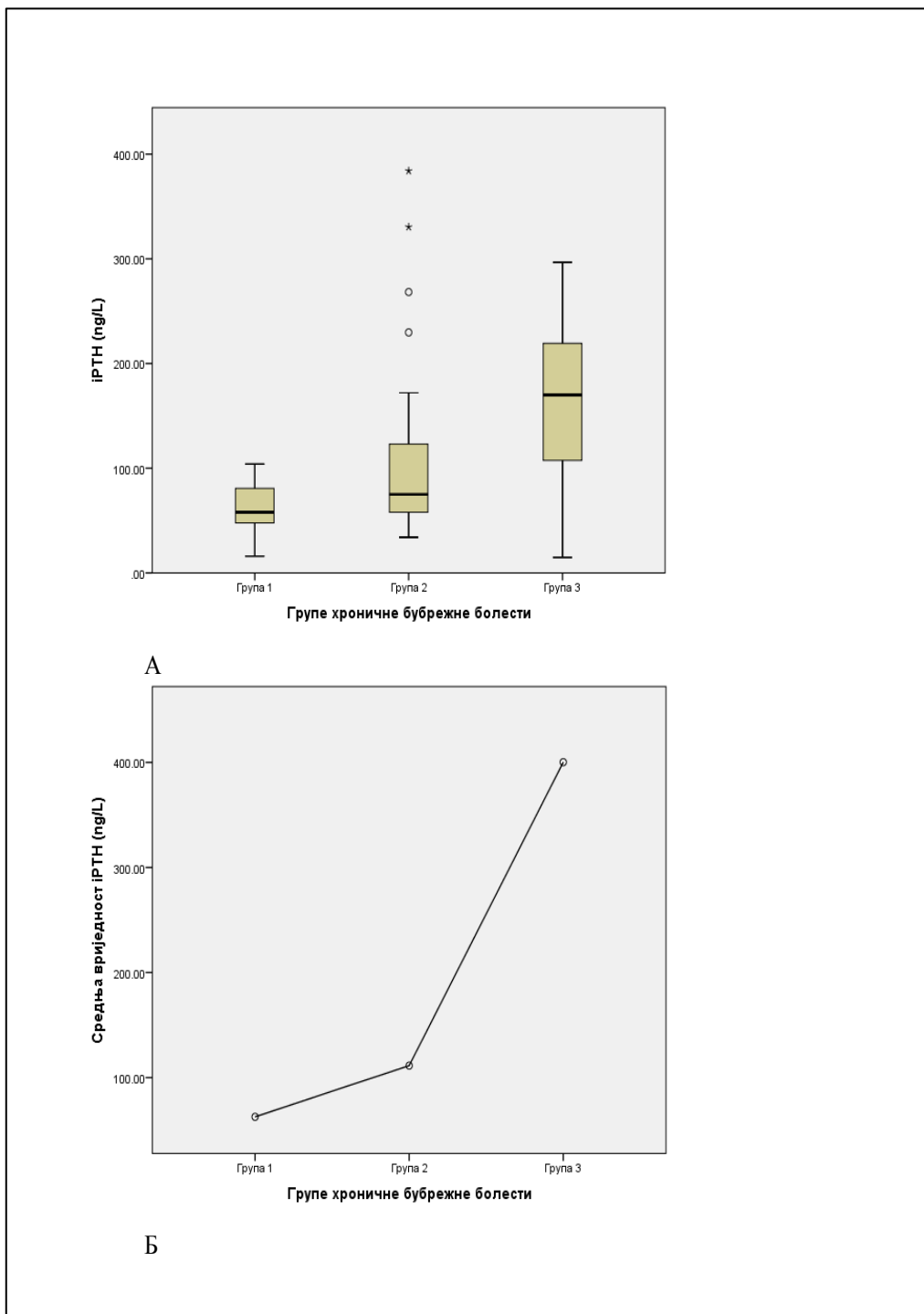
Табела 10: Вриједности *CKD-MBD* параметара и интима-медија комплекса у односу на групе хроничне бубрежне болести.

	Група 1	Група 2	Група 3	<i>p</i>
Ca (mmol/L)	2,33±0,10	2,33±0,14	2,37±0,31	0,74
P (mmol/L)	1,02±0,17	1,22±0,21	1,55±0,32	<0,001
CaхP (mmol²/L²)	2,38±0,45	2,83±0,43	3,69±0,92	<0,001
ALP (U/L)	73,52±29,03	93,40±48,65	106,93±61,15	<0,05
BALP(μg/L)	8,07±1,42	7,63±1,89	6,96±2,01	0,06
iPTH (ng/L)	62,66±20,33	111,41±88,50	400,24±556,92	<0,001
25(OH)D (ng/mL)	32,41±5,20	33,41±4,21	32,24±3,56	0,54
Cr (μmol/L)	80,27±18,69	165,36±67,54	632,92±207,01	<0,001
eGFR (ml/min/1,73m²)	77,59±15,04	37,97±13,10	7,37±2,93	<0,001
FGF23 (ng/L)	66,08±8,99	88,02±53,64	87,14±49,70	0,09
Sclerostin (ng/mL)	1,81±0,29	1,69±0,38	1,51±0,57	<0,05
IMT (mm)	1,00±0,20	1,10±0,20	1,20±0,30	<0,05

Скраћенице: CKD-MBD (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Са – серумски калцијум, Р – серумску фосфат, СахР – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштана алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin-серумски склеростин, ИМТ- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. Група 1 – почетна, Група 2 – манифестна, Група 3- терминална бубрежна болест. Вриједности су приказане као средња вриједност ± стандардна девијација.

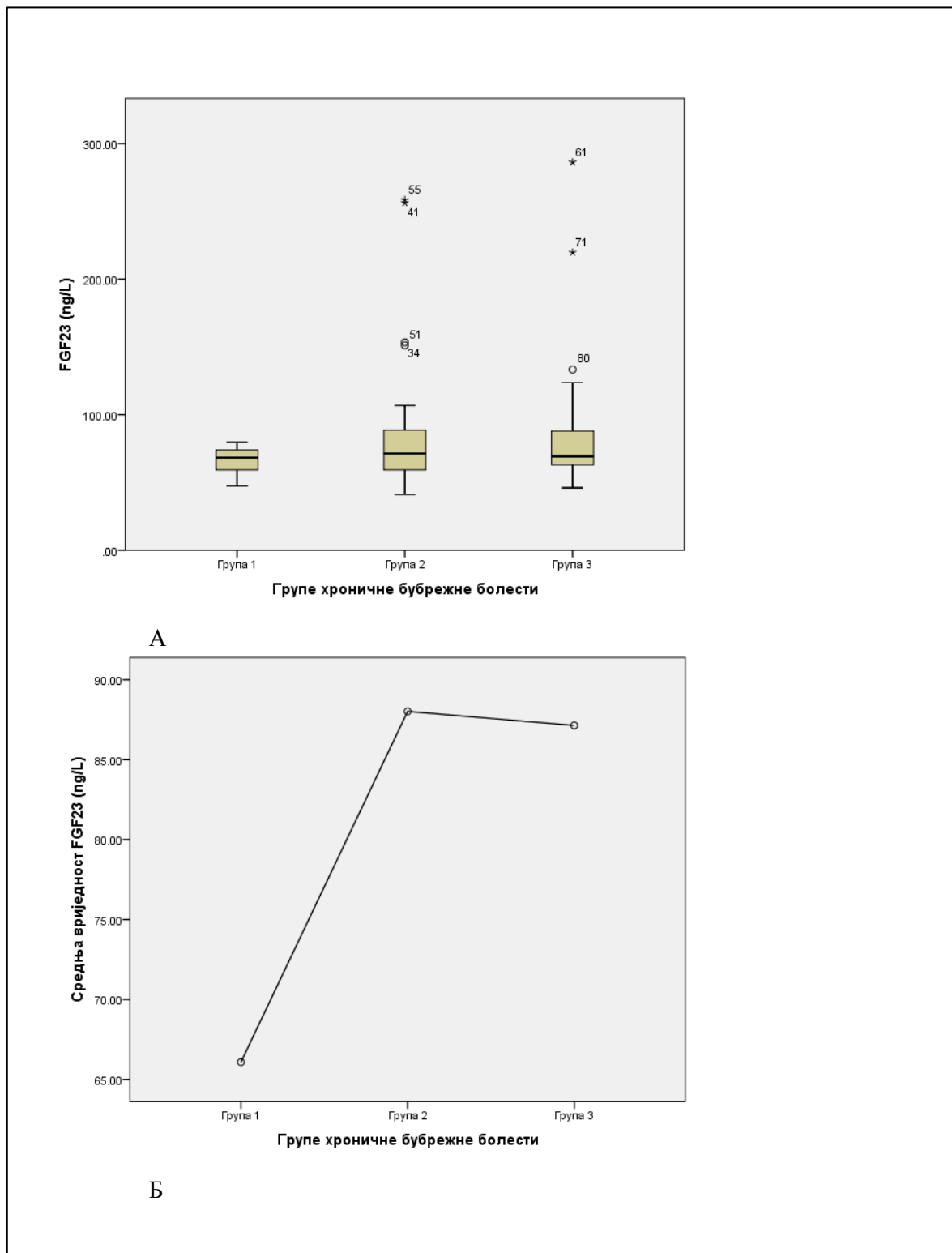
Групе пацијената са почетном, манифестном и терминалном бубрежном слабошћу су се статистички значајно разликовале у односу на вриједности серумског креатинина и процијењене јачине гломерулске филтрације ($p < 0,001$), серумског фосфата, производа калцијума и фосфата, ALP, iPTH, склеростина, ИМТ (Табела 10).

Вриједности интактног паратиреоидног хормона су показале тренд раста са погоршањем бубрежне функције и статистички су се значајно разликовале у односу на групе хроничне болести бубрега (Графикон 24).



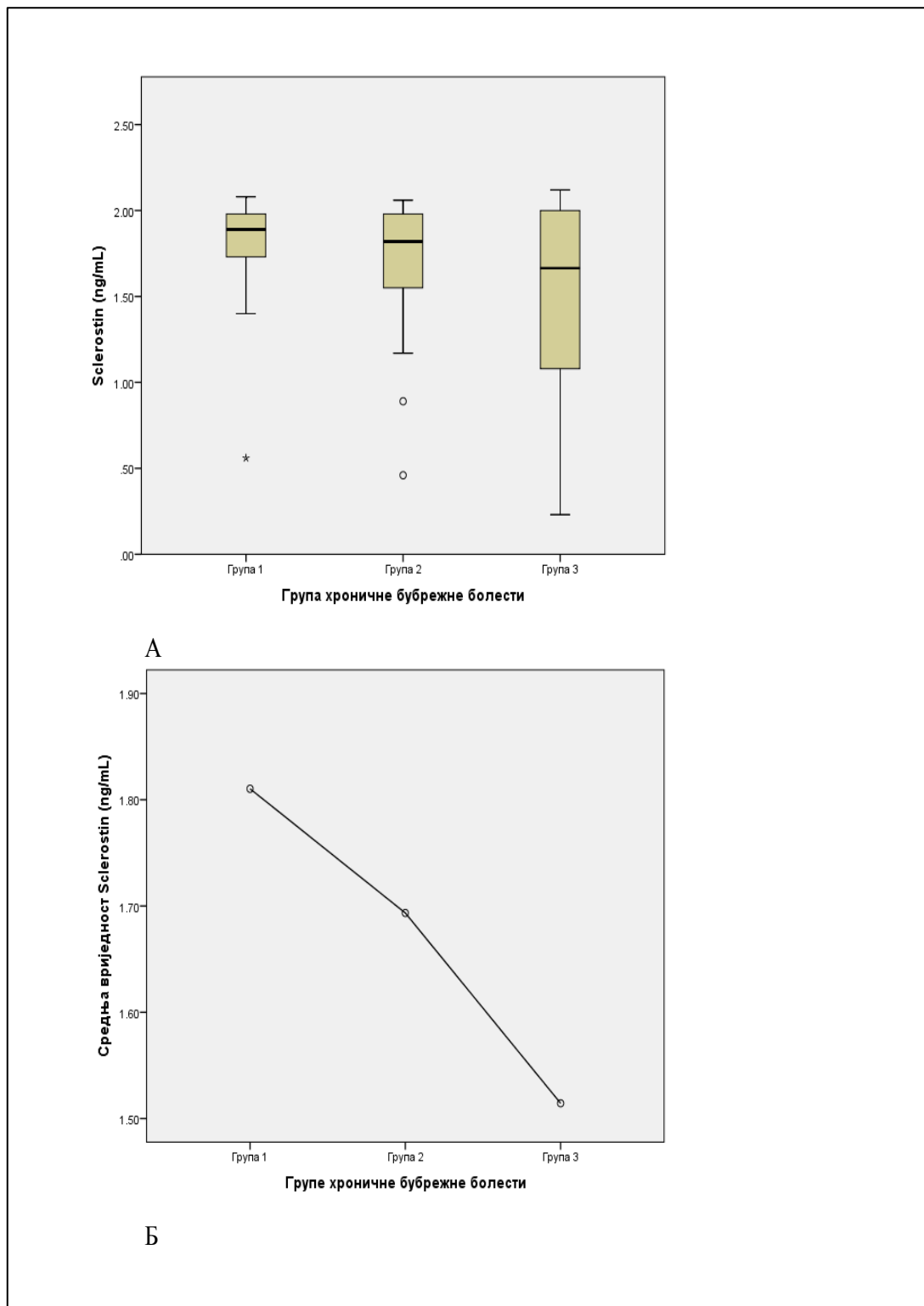
Графикон 24: Анализа вриједности интактног паратиреоидног хормона у односу на групе хроничне болести бубрега.

FGF23 је, такође, показао пораст вриједности у серуму са погоршањем бубрежне функције, али без статистички значајне разлике између група хроничне болести бубрега (Графикон 25).



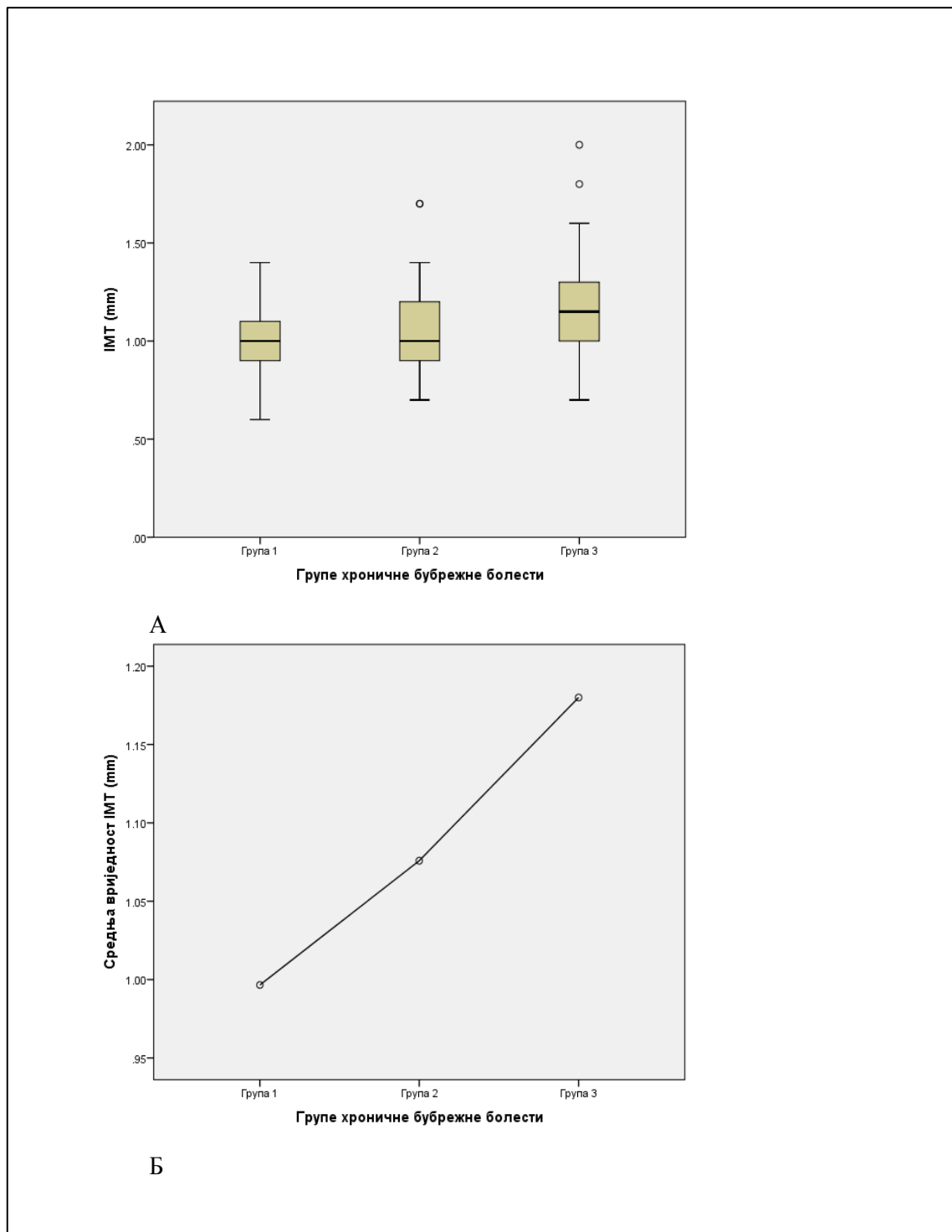
Графикон 25: Анализа вриједности *FGF23* у односу на групе хроничне болести бубрега.

Узнапредовалу бубрежну болест пратиле су ниже вриједности серумског склеростина уз статистички значајну разлику између група ХББ (Графикон 26).



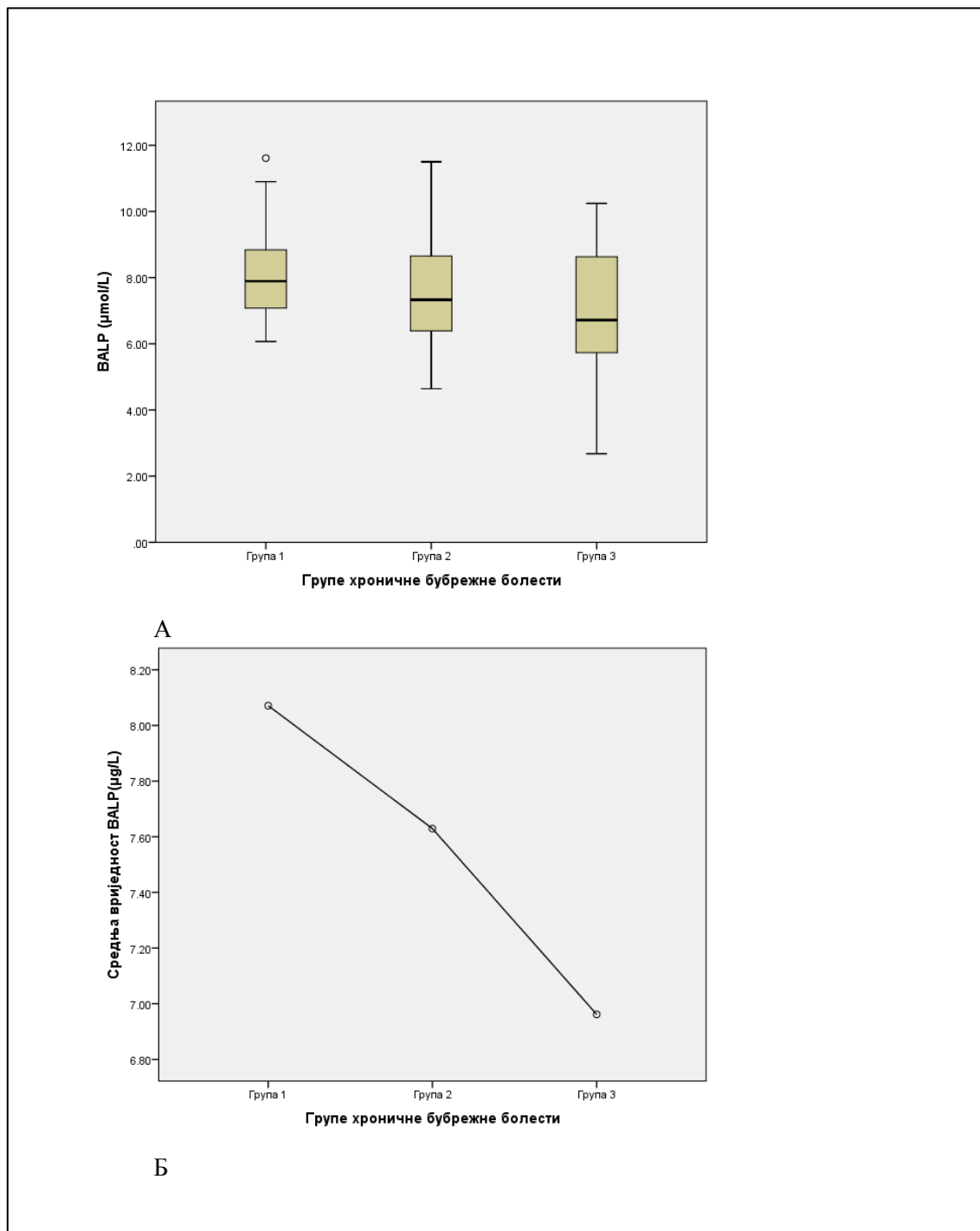
Графикон 26: Анализа вриједности склеростина у односу на групе хроничне болести бубрега.

Групе ХББ су се статистички значајно разликовале и у односу на дебљину интима-медија комплекса (Графикон 27).



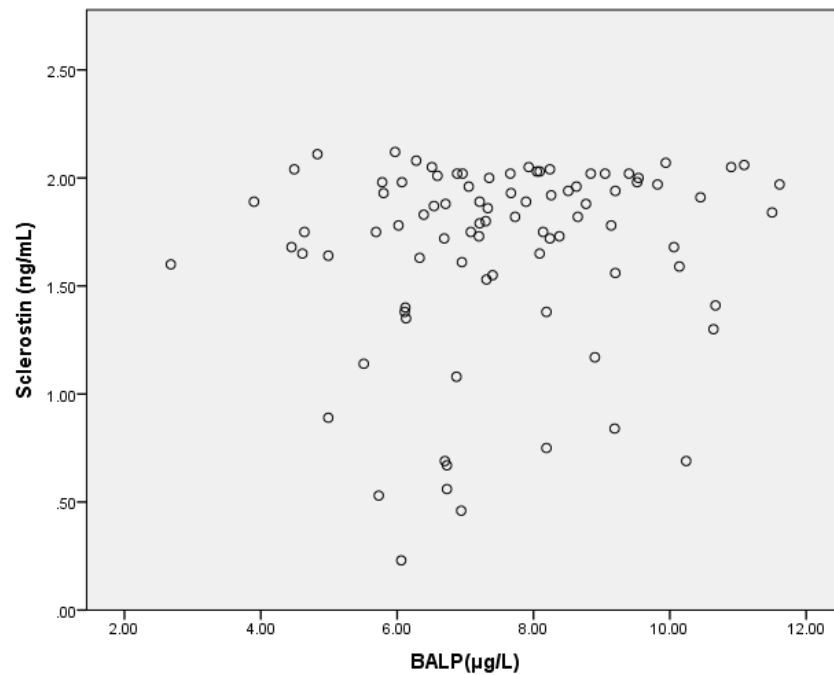
Графикон 27: Анализа вриједности интима-медија комплекса у односу на групе хроничне болести бубрега.

Пацијенти са почетном ХББ су имали више вриједности коштаноспецифичне алкалне фосфатазе у односу на манифестну и терминалну бубрежну болест, али без статистичке значајности ($p=0,06$) (Графикон 28).



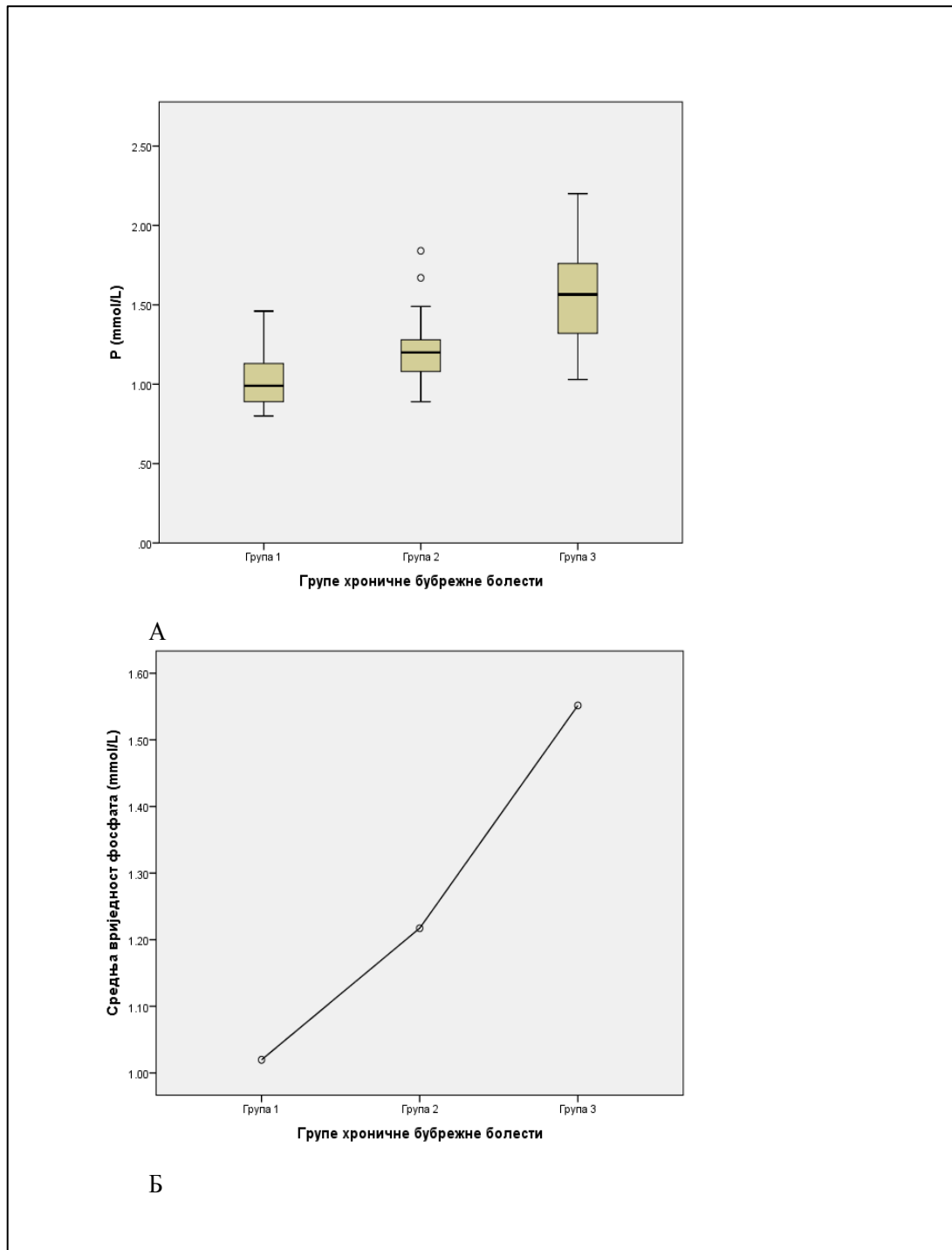
Графикон 28: Анализа вриједности коштаноспецифичне алкалне фосфатазе у односу на групе хроничне болести бубрега.

Серумске вриједности склеростина нису показале значајну корелацију са вриједностима коштаног-специфичне алкалне фосфатазе у серуму (Графикон 29).



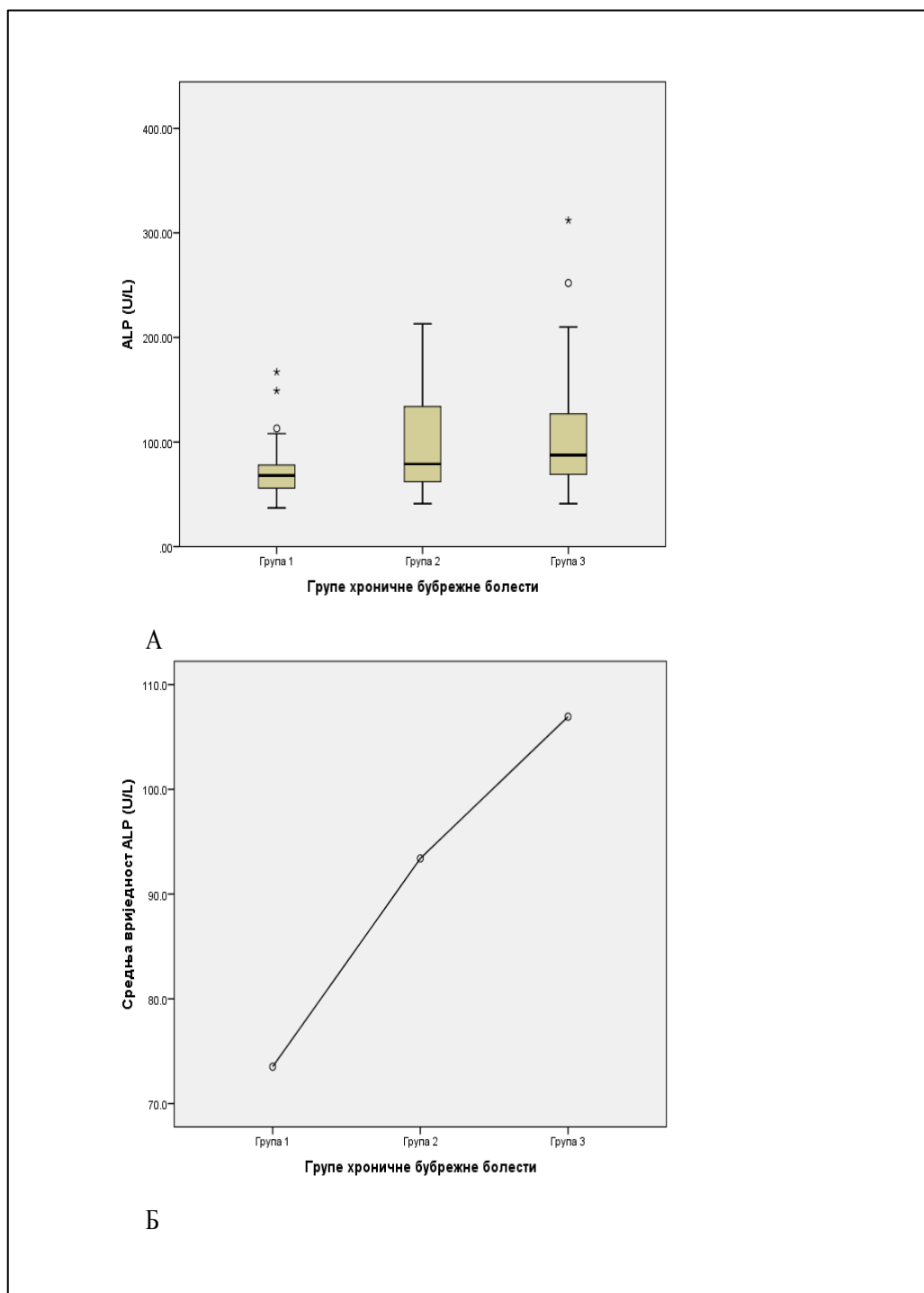
Графикон 29: Анализа повезаности између вриједности серумског склеростина и коштаног-специфичне алкалне фосфатазе

Групе пацијената у односу на ХББ су се статистички значајно разликовале у односу на вриједности фосфата у серуму (Графикон 30).



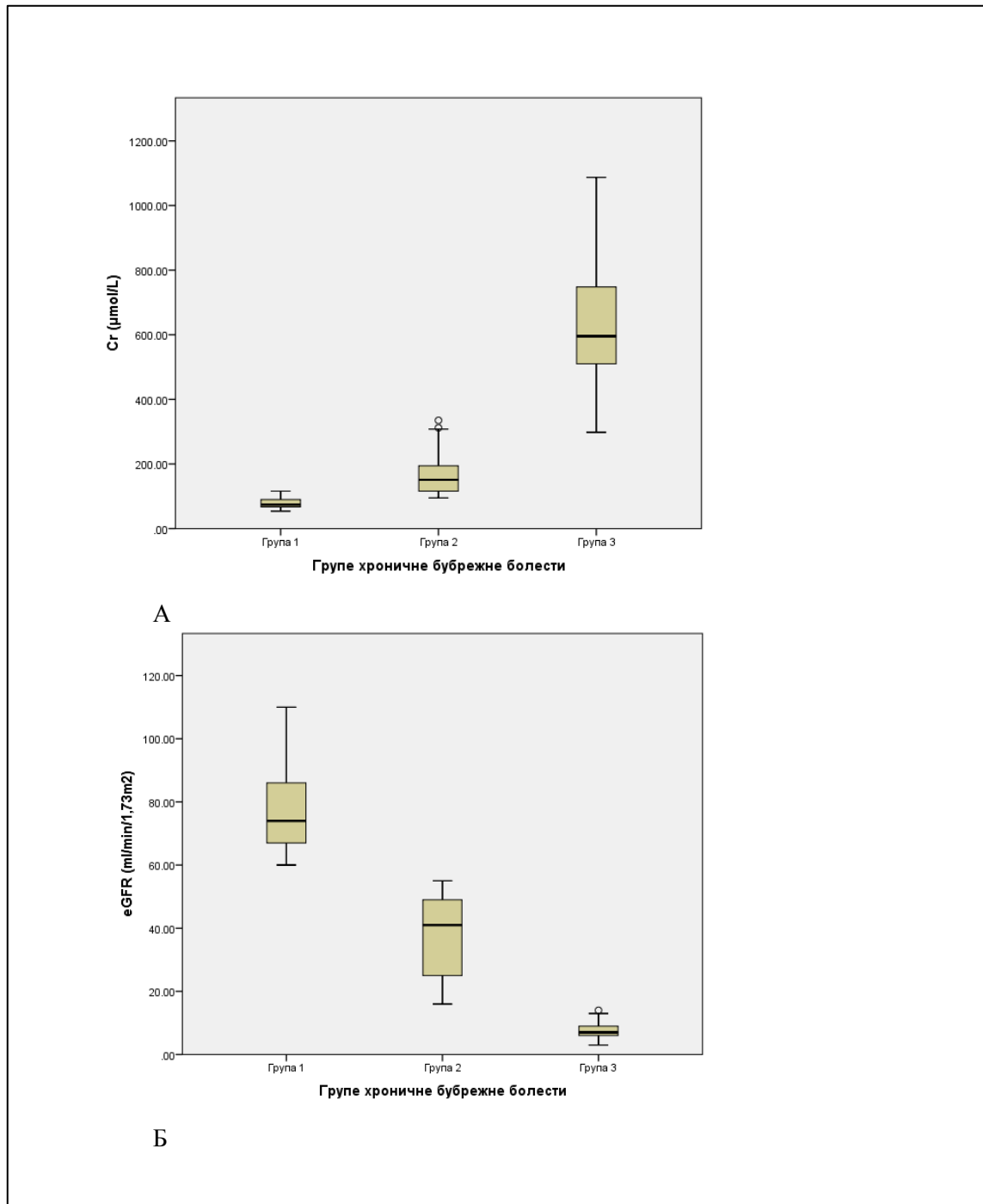
Графикон 30: Анализа вриједности фосфата у односу на групе хроничне болести бубрега.

Групе ХББ са лошијом бубрежном функцијом су имале значајнију већу активност укупне алкалне фосфатазе (Графикон 31).



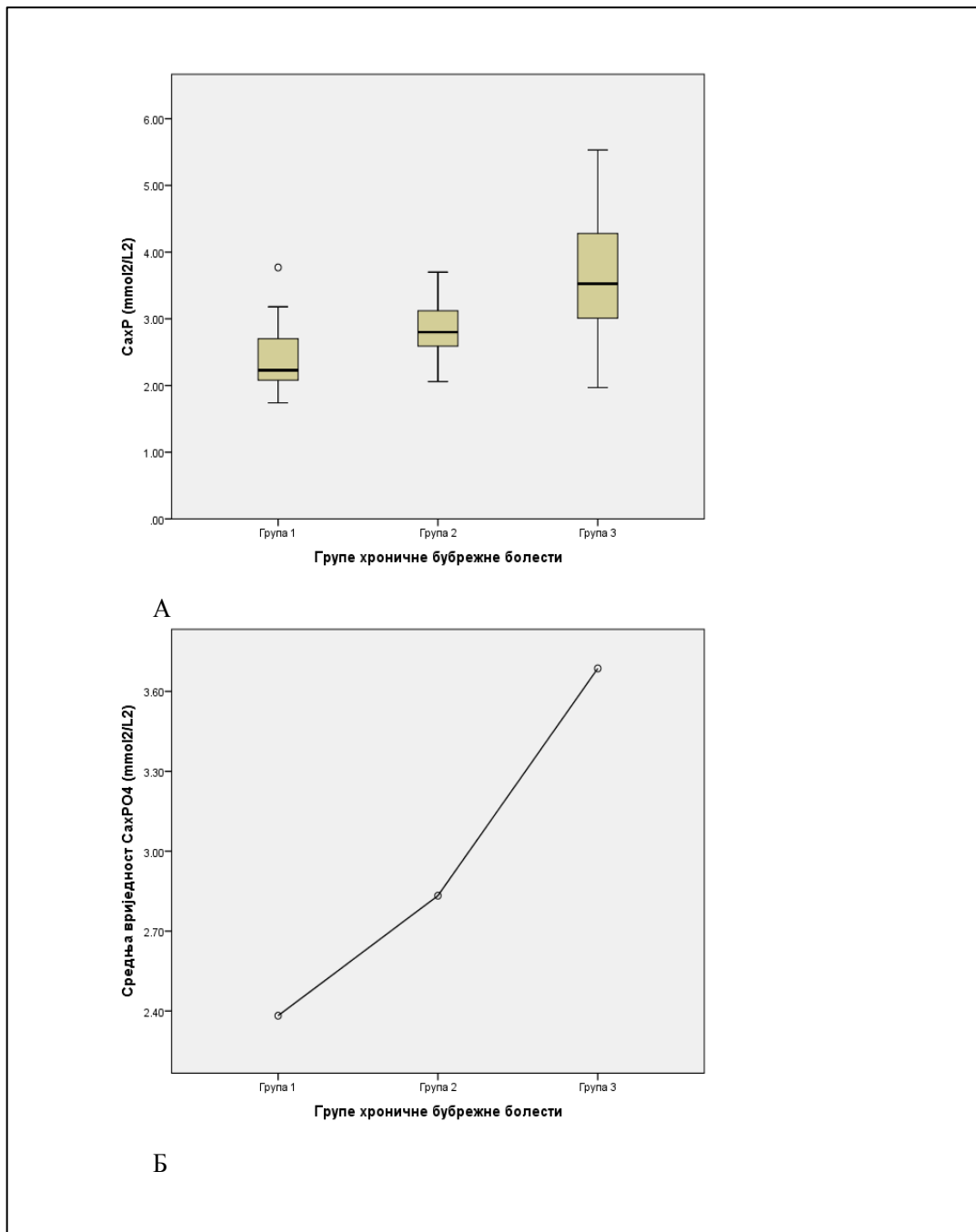
Графикон 31: Анализа вриједности алкалне фосфатазе у односу на групе хроничне болести бубрега.

Групе пацијената у односу на ХББ су показале очекивану, статистички значајну, разлику у односу на средњу вриједност серумског креатинина и процијењене јачине гломерулске филтрације (Графикон 32).



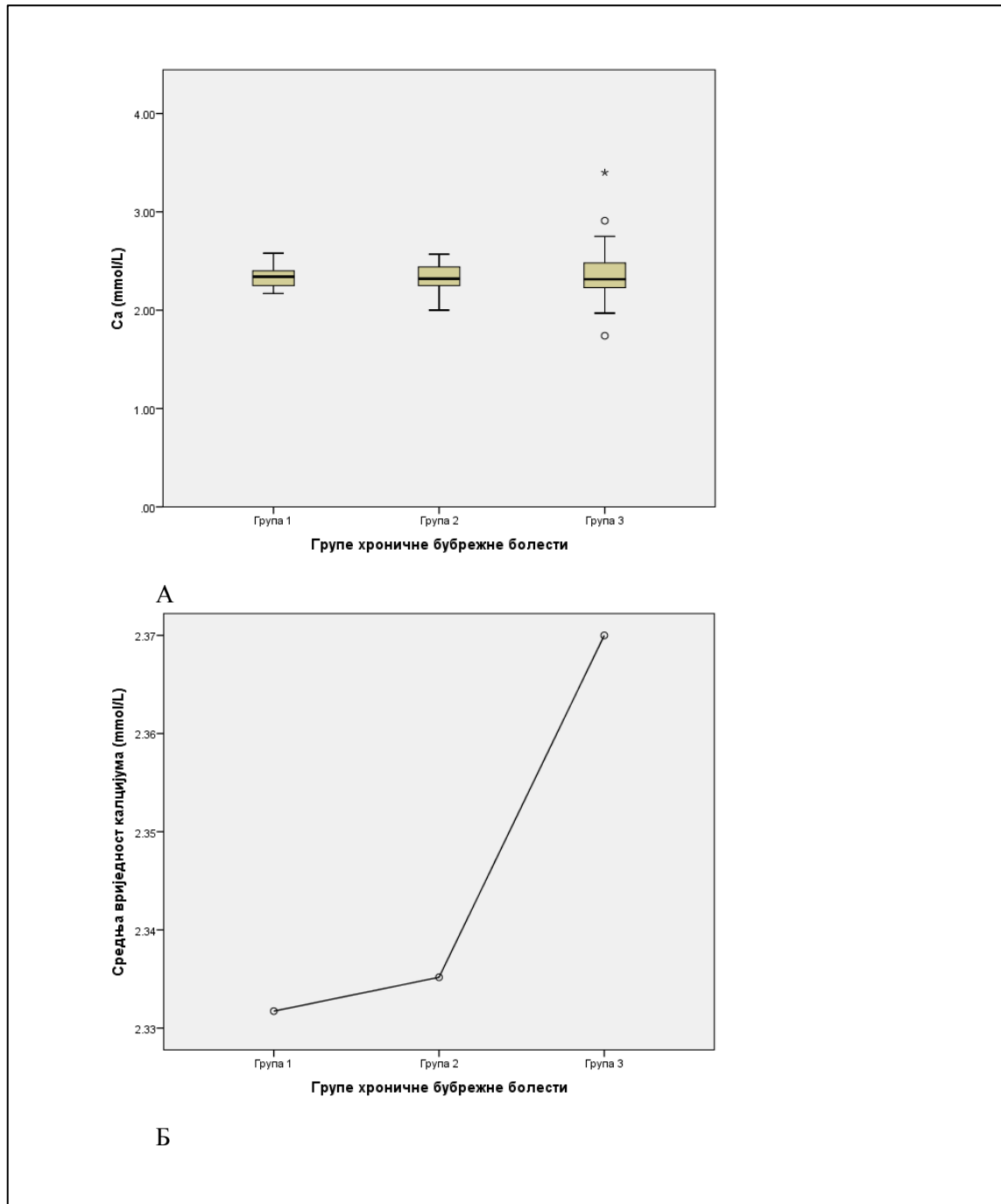
Графикон 32: Анализа вриједности креатинина и *eGFR* у односу на групе хроничне болести бубрега.

Групе хроничне болести бубрега су се статистички значајно разликовале у односу на вриједности производа калцијума и фосфата у серуму ($p < 0,001$) (Графикон 33).



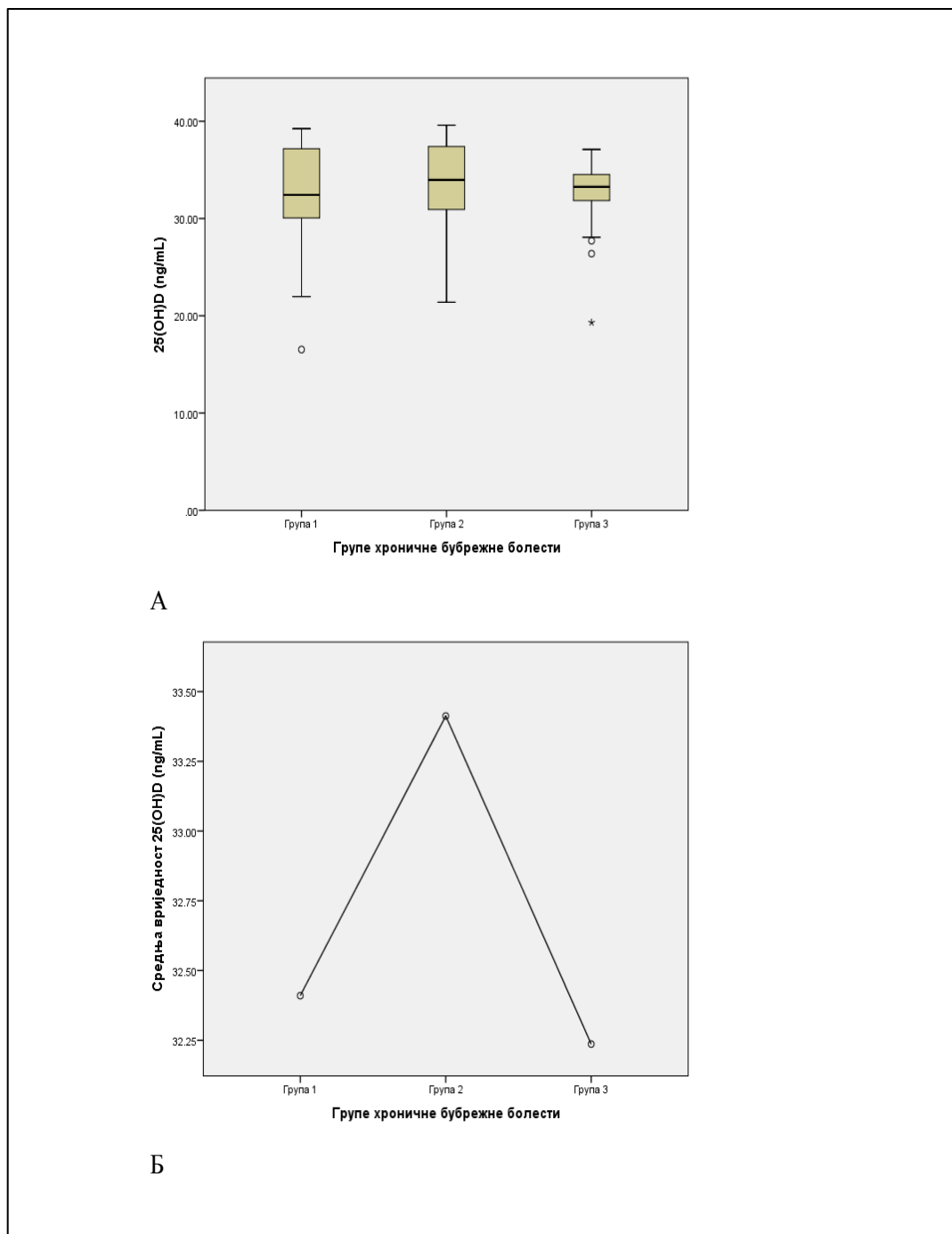
Графикон 33: Анализа вриједности производа калцијума и фосфата у односу на групе хроничне болести бубрега.

Иако су пацијенти са терминалном ХББ имали више вриједности серумског калцијума у односу на друге групе, између група није било статистички значајне разлике у односу на вриједности калцијума у серуму (Графикон 34).



Графикон 34: Анализа вриједности калцијума у односу на групе хроничне болести бубрега.

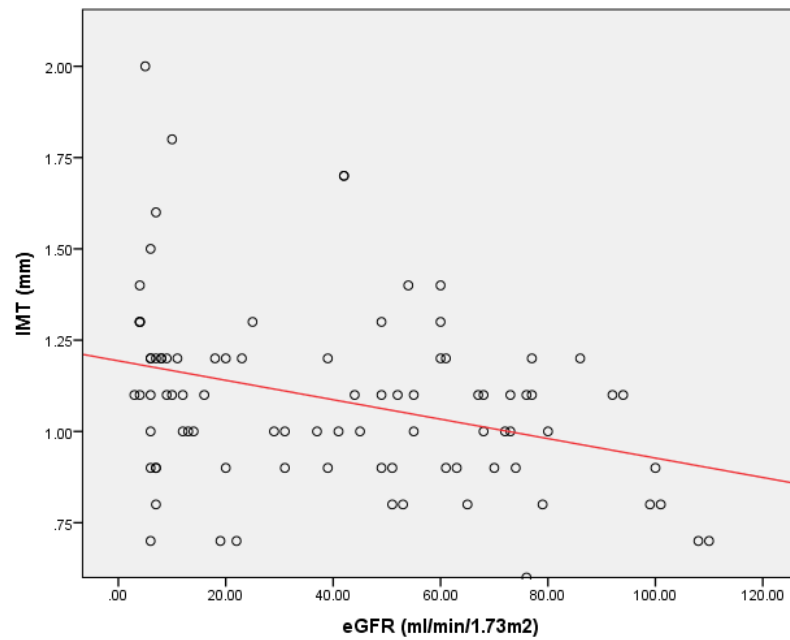
Такође, није нађена нити статистички значајна разлика у односу на вриједности $25(OH)D$ међу групама ХББ (Графикон 35).



Графикон 35: Анализа вриједности витамина D у односу на групе хроничне болести бубрега.

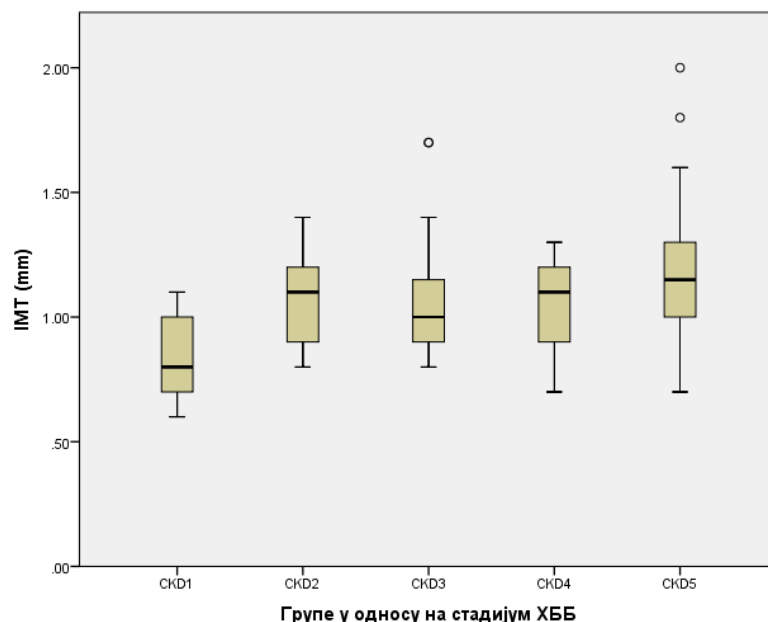
5.5. Испитивање повезаности између *CKD-MBD* параметара и вриједности *IMT*

Погоршање бубрежне функције је значајно корелирало са повећањем дебљине интима-медије комплекса (Графикон 36).



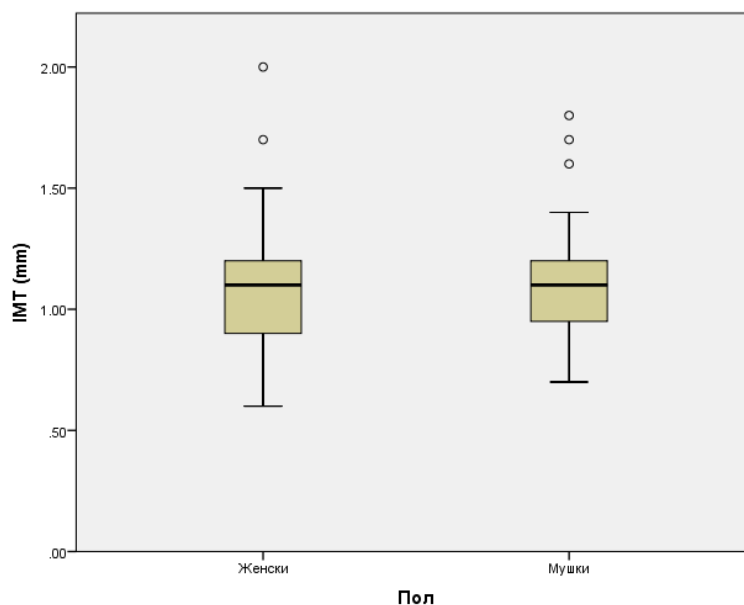
Графикон 36: Анализа повезаности између дебљине интима-медија комплекса и процијењене јачине гломерулске филтрације.

Стадијуми ХББ су се статистички значајно разликовали у односу на вриједности интима-медија комплекса (Графикон 37). Од стадијума 2 ХББ, средња вриједност је интима-медија комплекса је била изнад референтних вриједности.



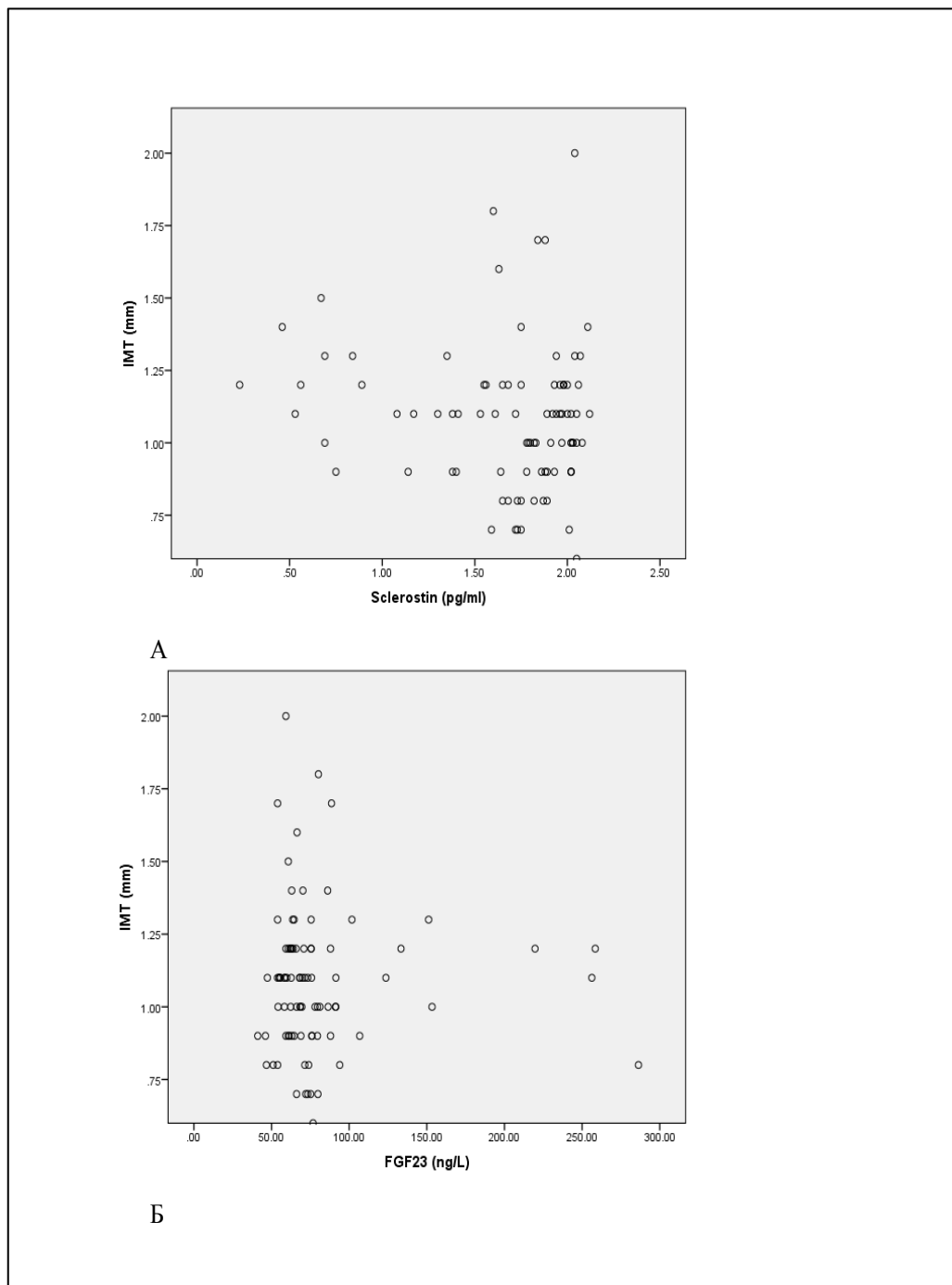
Графикон 37: Анализа повезаности између дебљине интима-медија комплекса и стадијума хроничне болести бубрега.

У односу на пол испитаника није било статистички значајне разлике у вриједностима интима-медија комплекса (Графикон 38).



Графикон 38: Анализа повезаности између дебљине интима-медија комплекса и пола испитаника.

Вриједности интима-медија комплекса нису показале значајну корелацију ни са вриједностима склеростина у серуму, нити са вриједностима *FGF23* (Графикон 39).



Графикон 39: Анализа повезаности између дебљине интима-медија комплекса и
А- серумског склеростина и Б – *FGF23*.

Анализирајући повезаност *CKD-MBD* параметара са полом испитаника, нађена је високо значајна корелације између пола испитаника и вриједности склеростина у серуму. Пацијенти женског пола су имали више вриједности склеростина у односу на пацијенте мушког пола ($p < 0,001$). За остале параметре није показана значајна разлика у вриједностима у односу на пол испитаника (Табела 11).

Табела 11: Разлике у вриједностима *CKD-MBD* параметара и *IMT* у односу на пол испитаника.

	<i>Женски пол</i> <i>n = 49</i>	<i>Мушки пол</i> <i>n = 39</i>	<i>p</i>
<i>Године</i>	63,27 ± 10,64	62,31 ± 12,34	0,70
<i>Ca (mmol/L)</i>	2,34 ± 0,14	2,35 ± 0,27	0,70
<i>P (mmol/L)</i>	1,29 ± 0,35	1,24 ± 0,30	0,53
<i>SaxP (mmol²/L²)</i>	3,00 ± 0,81	2,94 ± 0,89	0,75
<i>ALP (U/L)</i>	92,85 ± 55,97	89,72 ± 41,15	0,77
<i>BALP (μg/L)</i>	7,65 ± 1,88	7,41 ± 1,78	0,55
<i>iPTH (ng/L)</i>	246,18 ± 465,58	132,72 ± 137,37	0,15
<i>25(OH)D (ng/mL)</i>	33,01 ± 3,97	32,27 ± 4,80	0,43
<i>eGFR (ml/min/1,73m²)</i>	43,88 ± 33,59	36,46 ± 27,64	0,27
<i>Cr (μmol/L)</i>	274,31 ± 277,76	324,86 ± 274,89	0,40
<i>FGF23 (ng/L)</i>	82,16 ± 42,40	78,39 ± 44,96	0,69
<i>Sclerostin (ng/mL)</i>	1,84 ± 0,28	1,46 ± 0,52	<0,001
<i>IMT (mm)</i>	1,06 ± 0,25	1,11 ± 0,25	0,36

Скраћенице: CKD-MBD (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Ca – серумски калцијум, P – серумску фосфат, SaxP – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштана алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin-серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. Вриједности су приказане као средња вриједност ± стандардна девијација.

Вриједности интима-медија комплекса су значајно корелирале са старосном доби испитаника, бубрежном функцијом, вриједностима серумског фосфата, производа калцијума и фосфата и са вриједностима интактног паратиреоидног хормона (Табела 12).

Табела 12: Повезаност између дебљине интима-медија комплекса и присуства плака у каротидним артеријама са *CKD-MBD* параметрима.

	<i>Ca</i>	<i>P</i>	<i>CaхР</i>	<i>ALP</i>	<i>BALP</i>	<i>iPTH</i>	<i>25(OH)D</i>	<i>FGF23</i>	<i>Scl</i>	<i>Доб</i>	<i>Cr</i>	<i>eGFR</i>	<i>Плак</i>
ИМТ (mm)	$r = 0,13$	$r = 0,21^*$	$r = 0,25^*$	$r = 0,09$	$r = -0,17$	$r = 0,24^*$	$r = 0,06$	$r = -0,01$	$r = -0,14$	$r = 0,38^*$	$r = 0,28^{**}$	$r = -0,34^{**}$	$r = 0,43^{**}$
Плак	$r = 0,27^*$	$r = 0,12$	$r = 0,21^*$	$r = -0,05$	$r = -0,05$	$r = 0,08$	$r = -0,01$	$r = 0,01$	$r = -0,15$	$r = 0,43^{**}$	$r = 0,22^*$	$r = -0,31^{**}$	

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, *Ca* – серумски калцијум, *P* – серумску фосфат, *CaхР* – производ серумског калцијума и фосфата, *ALP* – алкална фосфатаза, *BALP* – коштана алкална фосфатаза, *iPTH* – интактни паратиреоидни хормон, *Cr* – креатинин у серуму, *eGFR* (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, *25(OH)D* – 25-хидрокси-витамин D, *FGF23* – фибробластни фактор раста 23, *Sclerostin*- серумски склеростин, *ИМТ*- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. * - корелација је значајна при $p < 0,05$, ** - корелација је значајна при $p < 0,01$.

5.6. Анализа повезаности између *CKD-MBD* параметара и *IMT* унутар сваког стадијума хроничне бубрежне болести

Табела 13: Корелациони матрикс *CKD-MBD* параметара у стадијуму 1 ХББ.

Године	Ca	P	CaхР	ALP	BALP	iPTH	eGFR	Cr	25(OH)D	FGF23	Sclerostin	IMT
Ca	r= 0,36											
P	r= 0,76*	r= 0,33										
CaхР	r= 0,77*	r= 0,47	r= 0,99**									
ALP	r= 0,84**	r= 0,23	r= 0,84**	r= 0,78*								
BALP	r= -0,15	r= -0,02	r= -0,05	r= -0,04	r= -0,30							
iPTH	r= -0,23	r= -0,03	r= -0,05	r= 0,14	r= -0,25	r= -0,10						
eGFR	r= -0,80*	r= -0,39	r= -0,79*	r= -0,81*	r= -0,74*	r= -0,82	r= -0,10					
Cr	r= 0,35	r= 0,01	r= 0,68	r= 0,64	r= 0,58	r= -0,18	r= 0,40	r= -0,66				
25(OH)D	r= 0,47	r= 0,63	r= 0,75*	r= 0,79*	r= 0,63	r= -0,14	r= -0,24	r= -0,41	r= 0,42			
FGF23	r= 0,16	r= 0,17	r= -0,18	r= -0,13	r= -0,56	r= 0,56	r= -0,77*	r= -0,07	r= -0,37	r= -0,03		
Sclerostin	r= -0,07	r= -0,08	r= 0,09	r= -0,06	r= -0,24	r= 0,33	r= -0,55	r= -0,39	r= 0,07	r= -0,07	r= 0,36	
IMT	r= 0,66	r= -0,01	r= 0,42	r= 0,38	r= 0,63	r= -0,65	r= 0,05	r= -0,03	r= 0,12	r= 0,23	r= -0,37	r= -0,52
Плак	r= 0,73*	r= 0,26	r= 0,59	r= 0,60	r= 0,71	r= -0,46	r= 0,26	r= -0,26	r= 0,33	r= 0,45	r= -0,36	r= 0,88**

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Ca – серумски калцијум, P – серумску фосфат, CaхР – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштане алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin- серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. * - корелација је значајна при $p < 0,05$, ** - корелација је значајна при $p < 0,01$.

Табела 14: Корелациони матрикс *СКD-MBD* параметара у стадијуму 2 ХББ.

Године	Ca	P	CaxP	ALP	BALP	iPTH	25(OH)D	FGF23	Sclerostin	eGFR	Cr	IMT
Ca	r=0,48*											
P	r=-0,13	r=0,18										
CaxP	r=-0,01	r=0,41	r=0,98**									
ALP	r=-0,23	r=-0,12	r=-0,16	r=-0,17								
BALP	r=0,24	r=-0,13	r=0,15	r=0,12	r=-0,14							
iPTH	r=-0,01	r=0,31	r=0,29	r=0,35	r=-0,25	r=0,01						
25(OH)D	r=0,08	r=-0,11	r=0,25	r=0,20	r=0,26	r=0,30	r=0,07					
FGF23	r=-0,14	r=-0,29	r=0,15	r=0,10	r=0,20	r=0,21	r=0,03	r=-0,22				
Sclerostin	r=0,19	r=0,07	r=0,23	r=0,47*	r=0,20	r=0,27	r=0,58**	r=-0,03	r=0,19			
eGFR	r=0,58**	r=0,47*	r=0,22	r=0,31	r=0,02	r=0,32	r=0,26	r=-0,03	r=0,13	r=-0,81**		
Cr	r=-0,74**	r=-0,39	r=-0,13	r=-0,20	r=0,08	r=-0,23	r=-0,10	r=0,14	r=-0,06	r=-0,22	r=0,02	
IMT	r=0,14	r=-0,15	r=-0,16	r=-0,18	r=0,20	r=-0,07	r=0,15	r=0,17	r=0,09	r=0,39	r=-0,27	r=0,02
Плак	r=0,47*	r=0,23	r=-0,20	r=-0,12	r=0,07	r=-0,09	r=0,08	r=-0,02	r=0,09	r=0,39	r=-0,27	r=0,02

Скраћенице: *СКD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, *Ca* – серумски калцијум, *P* – серумску фосфат, *CaxP* – производ серумског калцијума и фосфата, *ALP* – алкална фосфатаза, *BALP* – коштане алкална фосфатаза, *iPTH* – интактни паратиреоидни хормон, *Cr* – креатинин у серуму, *eGFR* (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, *25(OH)D* – 25-хидрокси-витамин D, *FGF23* – фибробластни фактор раста 23, *Sclerostin*- серумски склеростин, *IMT*- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. * - корелација је значајна при $p < 0,05$, ** - корелација је значајна при $p < 0,01$.

Табела 15: Корелациони матрикс *CKD-MBD* параметара у стадијуму 3 ХББ.

Године	Ca	P	CaxP	ALP	BALP	iPTH	25(OH)D	FGF23	Sclerostin	eGFR	Cr	IMT
Ca	r = -0,13											
P	r = -0,23	r = 0,03										
CaxP	r = -0,25	r = 0,35	r = 0,94**									
ALP	r = 0,12	r = 0,11	r = -0,15	r = -0,12								
BALP	r = -0,01	r = 0,34	r = -0,10	r = 0,02	r = -0,37							
iPTH	r = 0,16	r = -0,15	r = -0,05	r = 0,58**	r = -0,25	r = -0,04						
25(OH)D	r = -0,11	r = 0,01	r = 0,09	r = 0,01	r = 0,03	r = 0,02	r = -0,28					
FGF23	r = -0,24	r = 0,13	r = -0,25	r = 0,03	r = 0,41	r = 0,20	r = 0,22	r = -0,06				
Sclerostin	r = 0,02	r = -0,07	r = 0,39	r = -0,09	r = -0,12	r = 0,13	r = -0,20	r = -0,19	r = -0,50*			
eGFR	r = 0,32	r = 0,30	r = -0,48*	r = 0,10	r = -0,06	r = -0,25	r = 0,17	r = 0,21	r = 0,12	r = -0,71**		
Cr	r = -0,64**	r = -0,10	r = 0,24	r = -0,35	r = 0,23	r = 0,40	r = -0,14	r = -0,06	r = -0,30	r = -0,03	r = 0,07	
IMT	r = 0,27	r = -0,03	r = -0,07	r = 0,23	r = 0,20	r = 0,02	r = -0,17	r = -0,04	r = -0,25	r = 0,27	r = -0,40	r = 0,24
Плак	r = 0,38	r = -0,01	r = 0,19	r = -0,14	r = 0,27	r = 0,02	r = -0,17	r = -0,04	r = -0,25	r = 0,27	r = -0,40	r = 0,24

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Ca – серумски калцијум, P – серумску фосфат, CaxP – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштана алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin- серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. * - корелација је значајна при $p < 0,05$, ** - корелација је значајна при $p < 0,01$.

Табела 16: Корелациони матрикс *СКD-MBD* параметара у стадијуму 4 ХББ.

Године	Ca	P	SaxP	ALP	BALP	iPTH	25(OH)D	FGF23	Sclerostin	eGFR	Cr	IMT
Ca												
P	r= -0,17											
SaxP	r= -0,10	r= 0,03										
ALP	r= 0,01	r= -0,24	r= 0,21									
BALP	r= 0,48	r= 0,25	r= -0,26	r= 0,06								
iPTH	r= -0,80**	r= -0,73*	r= 0,32	r= 0,34	r= -0,72*							
25(OH)D	r= 0,15	r= 0,01	r= 0,37	r= -0,24	r= -0,57	r= 0,05						
FGF23	r= 0,77*	r= 0,29	r= -0,33	r= -0,20	r= 0,13	r= -0,48	r= 0,37					
Sclerostin	r= 0,39	r= -0,01	r= -0,51	r= -0,22	r= 0,73*	r= -0,57	r= -0,47	r= 0,08				
eGFR	r= 0,75*	r= 0,12	r= -0,21	r= -0,19	r= -0,06	r= -0,68*	r= 0,29	r= 0,83**	r= 0,51			
Cr	r= -0,81**	r= -0,25	r= -0,04	r= -0,10	r= 0,13	r= -0,72*	r= -0,14	r= -0,35	r= -0,58	r= -0,84**		
IMT	r= 0,44	r= 0,63	r= 0,19	r= 0,28	r= 0,41	r= -0,49	r= -0,02	r= 0,36	-0,22	r= 0,09	r= -0,36	
Плак	r= 0,23	0,72*	r= -0,30	r= -0,04	r= -0,17	r= -0,57	r= -0,36	r= 0,43	r= 0,19	r= -0,08	r= -0,22	r= 0,71*

Скраћенице: *СКD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, *Ca* – серумски калцијум, *P* – серумску фосфат, *SaxP* – производ серумског калцијума и фосфата, *ALP* – алкална фосфатаза, *BALP* – коштана алкална фосфатаза, *iPTH* – интактни паратиреоидни хормон, *Cr* – креатинин у серуму, *eGFR* (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, *25(OH)D* – 25-хидрокси-витамин D, *FGF23* – фибробластни фактор раста 23, *Sclerostin*- серумски склеростин, *IMT*- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. * - корелација је значајна при $p < 0,05$, ** - корелација је значајна при $p < 0,01$.

Табела 17: Корелациони матрикс *CKD-MBD* параметара у стадијуму 5 ХББ.

Године	Ca	P	SaxP	ALP	BALP	iPTH	FGF23	Sclerostin	25(OH)D	eGFR	Cr	IMT
Ca	r = -0,18											
P	r = -0,27	r = 0,08										
SaxP	r = -0,37*	r = 0,60**	r = 0,84**									
ALP	r = -0,47**	r = -0,18	r = 0,33	r = 0,15								
BALP	r = -0,06	r = -0,10	r = -0,17	r = 0,21	r = 0,16							
iPTH	r = -0,01	r = 0,23	r = 0,21	r = 0,31	r = 0,33	r = -0,09						
FGF23	r = -0,07	r = -0,09	r = -0,05	r = -0,08	r = 0,06	r = -0,12	r = -0,15					
Sclerostin	r = 0,17	r = -0,27	r = -0,07	r = -0,19	r = -0,37*	r = -0,04	r = 0,19	r = -0,02				
25(OH)D	r = 0,25	r = 0,04	r = 0,12	r = 0,06	r = -0,03	r = -0,03	r = -0,03	r = -0,17	r = 0,38*			
eGFR	r = 0,14	r = 0,15	r = -0,42*	r = -0,26	r = -0,02	r = -0,08	r = -0,14	r = -0,13	r = 0,18	r = -0,85**		
Cr	r = -0,33	r = -0,01	r = 0,38*	r = 0,27	r = -0,07	r = 0,30	r = 0,03	r = -0,13	r = 0,19	r = -0,18	r = 0,09	
IMT	r = 0,38*	r = 0,06	r = 0,01	r = 0,06	r = -0,19	r = -0,33	r = -0,21	r = 0,08	r = -0,17	r = 0,21	r = -0,17	r = 0,40*
Плак	r = 0,44*	r = 0,25	r = -0,32	r = -0,10	r = -0,41*	r = -0,13	r = -0,05	r = -0,06				

Скраћенице: *CKD-MBD* (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, *Ca* – серумски калцијум, *P* – серумску фосфат, *SaxP* – производ серумског калцијума и фосфата, *ALP* – алкална фосфатаза, *BALP* – коштане алкална фосфатаза, *iPTH* – интактни паратиреоидни хормон, *Cr* – креатинин у серуму, *eGFR* (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, *25(OH)D* – 25-хидрокси-витамин D, *FGF23* – фибробластни фактор раста 23, *Sclerostin*- серумски склеростин, *IMT*- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. * - корелација је значајна при $p < 0,05$, ** - корелација је значајна при $p < 0,01$.

Корелације СКD-MBD параметара унутар сваког стадијума хроничне болести бубрега приказане су на Табелама 13-17.

У стадијуму 1 ХББ године испитаника су показале позитивну корелацију са вриједностима фосфата, производа калцијума и фосфата, алкалном фосфатазом и присуством атеросклеротског плака у каротидним артеријама, а негативну са процијењеном јачином гломерулске филтрације (Табела 13). Вриједности *FGF23* су негативно корелирале са вриједностима *iPTH* у стадијуму 1 ХББ.

Године испитаника су, као што је било и очекивано, позитивно корелирале са присуством атеросклеротског плака у каротидним артеријама и у стадијуму 2 ХББ (Табела 14). У овом стадијуму болести, вриједности серумског склеростина су позитивно корелирале са вриједностима *25(OH)D* и производом калцијума и фосфата.

Код пацијената са стадијумом 3 ХББ, вриједности склеростина су негативно корелирале са *eGFR*, а алкалне фосфатазе позитивно са вриједностима *iPTH* (Табела 15).

Вриједности *FGF23* су показале позитивну корелацију са *eGFR* и годинама испитаника у стадијуму 4 ХББ. Коштано-специфична алкална фосфатаза је позитивно корелирала са склеростином, а негативно са вриједностима *iPTH*. *iPTH* је негативно корелирао са вриједностима укупног калцијума у серуму (Табела 16).

У стадијуму 5 ХББ вриједности склеростина су показале позитивну корелацију са вриједностима *FGF23*, а негативну са вриједностима укупне алкалне фосфатазе. Алкална фосфатаза је негативно корелирала и са присуством атеросклеротског плака у каротидним артеријама (Табела 17). Процијењена јачина гломерулске филтрације је показала очекивану негативну корелацију са вриједностима *25(OH)D*.

Анализиране су и карактеристике пацијената у односу на дебљину интима-медија комплекса (Табела 18). Пацијенти који су имали нормалне вриједности *IMT* су имали значајније више вриједности процијењене јачине гломерулске филтрације ($p < 0,05$), односно бољу бубрежну функцију. Као што је било и очекивано, пацијенти са патолошким вриједностима *IMT* су били старије животне доби у односу на пацијенте са нормалним вриједностима *IMT* ($p < 0,001$). Када су у питању *CKD-MBD* параметри, није нађена статистички значајна разлика у односу на вриједности *IMT*.

Табела 18: Повезаност дебљине *IMT* са *CKD-MBD* параметрима

	<i>IMT</i> ≤ 0,9 mm n = 25	<i>IMT</i> > 0,9 mm n = 63	<i>p</i>
<i>Године</i>	55,16 ± 11,09	65,89 ± 10,03	<0,001
<i>Ca</i> (mmol/L)	2,33 ± 0,27	2,35 ± 0,17	0,66
<i>P</i> (mmol/L)	1,21 ± 0,35	1,29 ± 0,32	0,28
<i>СахР</i> (mmol ² /L ²)	2,81 ± 0,88	3,04 ± 0,82	0,25
<i>ALP</i> (U/L)	98,28 ± 65,39	88,76 ± 42,25	0,42
<i>BALP</i> (μg/L)	7,61 ± 1,58	7,52 ± 1,93	0,83
<i>iPTH</i> (ng/L)	106,88 ± 88,92	229,01 ± 416,22	0,16
<i>25(OH)D</i> (ng/mL)	32,37 ± 3,55	32,81 ± 4,64	0,67
<i>Cr</i> (μmol/L)	232,56 ± 251,39	322,17 ± 283,12	0,17
<i>eGFR</i> (ml/min/1,73m ²)	53,40 ± 35,13	35,50 ± 28,13	<0,05
<i>FGF23</i> (ng/L)	78,81 ± 45,44	81,15 ± 42,84	0,82
<i>Sclerostin</i> (ng/mL)	1,72 ± 0,29	1,65 ± 0,49	0,54

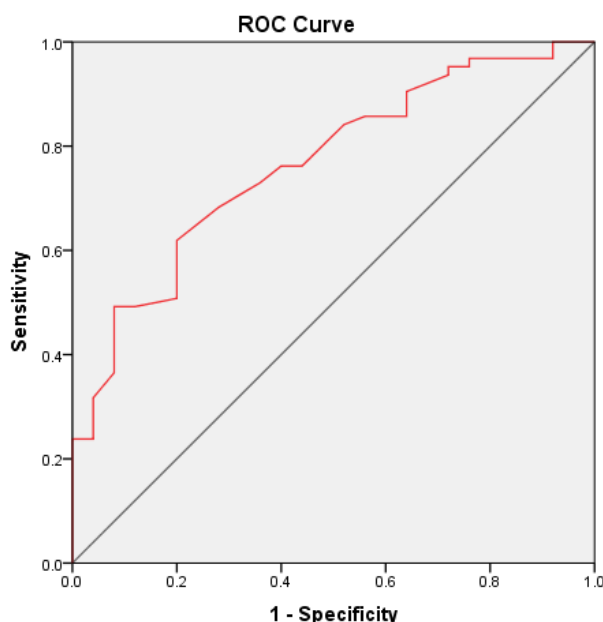
Скраћенице: CKD-MBD (chronic kidney disease-mineral and bone disorder) – поремећај минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести, Са – серумски калцијум, Р – серумску фосфат, СахР – производ серумског калцијума и фосфата, ALP – алкална фосфатаза, BALP – коштана алкална фосфатаза, iPTH – интактни паратиреоидни хормон, Cr – креатинин у серуму, eGFR (estimated glomerular filtration rate) – процијењена јачина гломерулске филтрације, 25(OH)D – 25-хидрокси-витамин D, FGF23 – фибробластни фактор раста 23, Sclerostin-серумски склеростин, IMT- средња вриједност интима-медија комплекса обе заједничке каротидне артерије. Вриједности су приказане као средња вриједност ± стандардна девијација.

Линеарном регресионом анализом је показано да се за свако смањење *eGFR* од $1 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ очекује:

- повећање вриједности *FGF23* за $0,316 \text{ ng/L}$ ($p=0,033$)
- смањење вриједности склеростина за $0,003 \text{ ng/mL}$ ($p=0,027$)
- повећање вриједности *IMT* за $0,003 \text{ mm}$ ($p=0,002$)
- повећање вриједности *SaxP* за $0,017 \text{ mmol}^2/\text{L}^2$ ($p<0,001$)
- повећање вриједности *P* за $0,007 \text{ mmol/L}$ ($p<0,001$)
- повећање вриједности *iPTH* за $4,369 \text{ ng/L}$ ($p<0,001$)

5.7. Анализа сензитивности и специфичности *CKD-MBD* параметара за настанак патолошког налаза *IMT* и каротидног плака

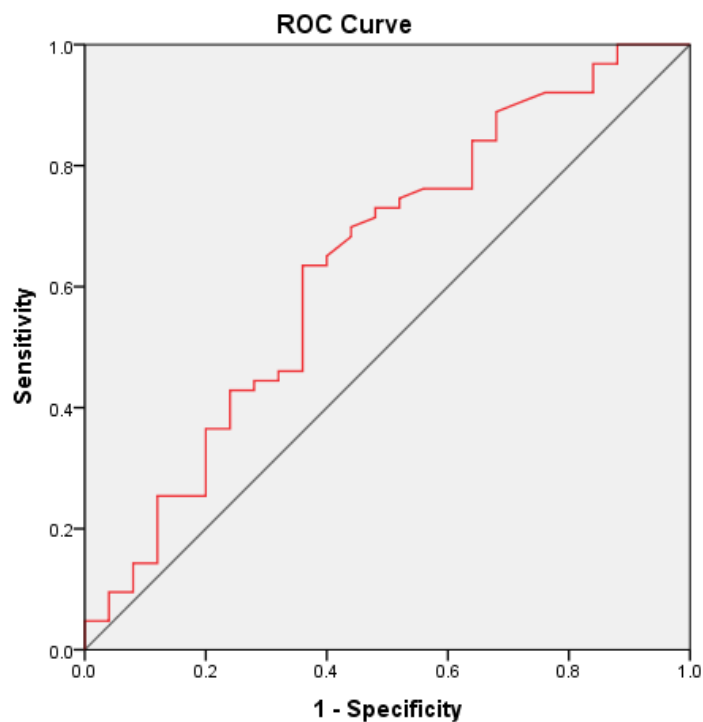
ROC анализом је показано да се површина испод *ROC* криве за старосну доб пацијената статистички значајно разликује ($p<0.001$) у односу на површину испод дијагонале и износи $0,765$ (Графикон 40). Гранична вриједност за године, односно "*cut-off*" вриједност када се региструје $IMT>0,9 \text{ mm}$, износи $61,50$ година уз сензитивност од $68,3\%$ и специфичност од 72% .



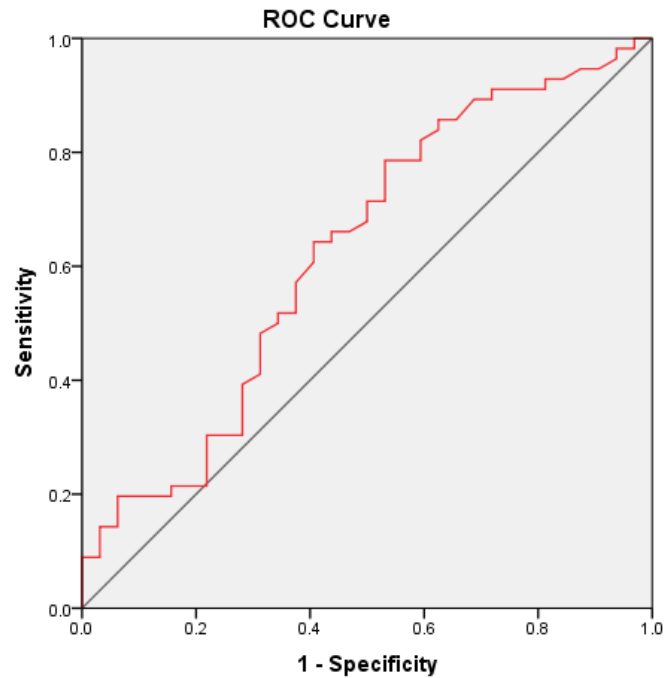
Графикон 40: *ROC* анализа повећања дебљине интима-медија комплекса зависно од старосне доби пацијената

Када су у питању вриједности серумског креатинина, гранична вриједност при којој се региструју патолошке вриједности *IMT* износи $126,50 \mu\text{mol/L}$ уз сензитивност од 63,50% и специфичност од 64%. *ROC* површина износи 0,639 са статистичком значајношћу $p=0.043$ (Графикон 41).

На основу *ROC* анализе је видљиво да године пацијената имају бољу предиктивну вриједност за настанак патолошког налаза *IMT* у односу на вриједности серумског креатинина.

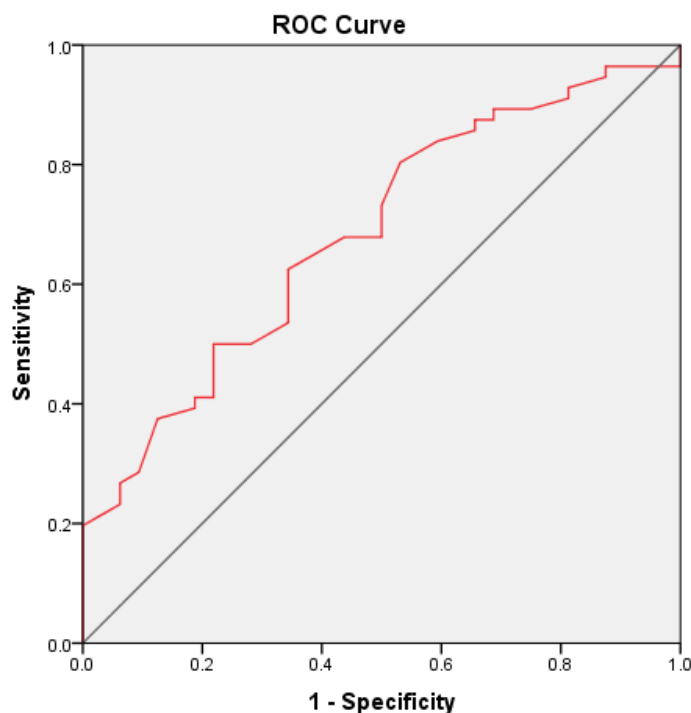


Графикон 41: *ROC* анализа повећања дебљине интима-медија комплекса зависно од вриједности серумског креатинина



Графикон 42: ROC анализа настанка атеросклеротских плакова зависно од производа серумског калцијума и фосфата

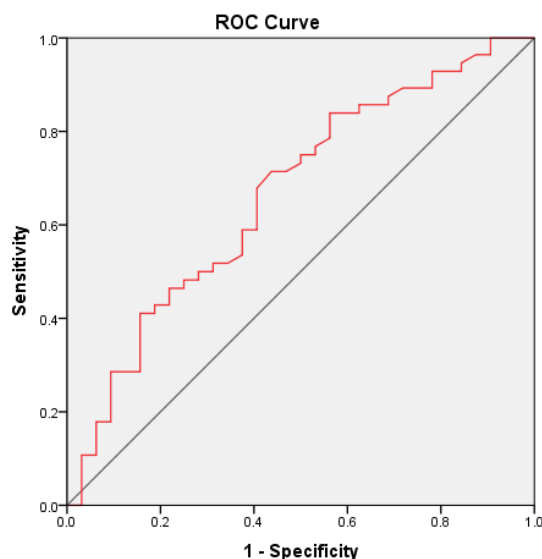
Површина испод ROC криве за производ серумског калцијума и фосфата се статистички значајно разликује ($p < 0,049$) од површине испод дијагонале за предикцију настанка атеросклеротских плакова у каротидним артеријама и износи 0,627. "Cut-off" вриједност преоизвода калцијума и фосфата износи $2,77 \text{ mmol}^2/\text{L}^2$ са 64,3% сензитивношћу и 59,4% специфичношћу (Графикон 42).



Графикон 43: ROC анализа настанка атеросклеротских плакова зависно од вриједности серумског калцијума

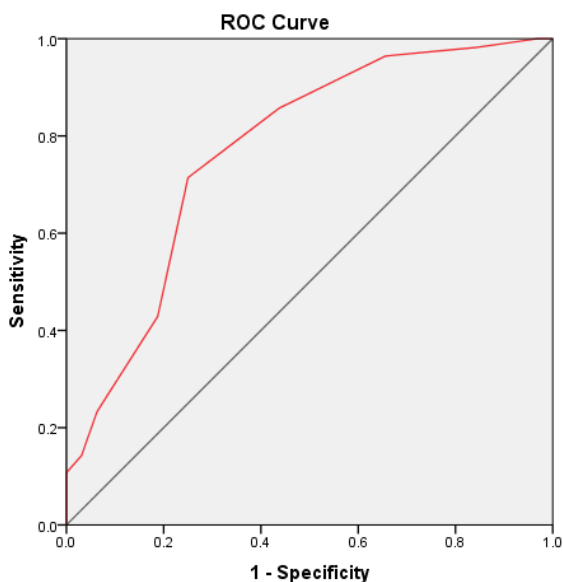
Површина испод *ROC* криве за вриједности серумског калцијума се статистички значајно разликује ($p=0,004$) од површине испод дијагонале за предикцију настанка атеросклеротских плакова у каротидним артеријама и износи 0,683. "Cut-off" вриједност серумског калцијума износи 2,31 mmol/L са 62,5% сензитивношћу и 65,6% специфичношћу (Графикон 43).

ROC анализа је показала да се површина испод *ROC* криве за вриједности серумског креатинина статистички значајно разликује ($p=0.01$) у односу на површину испод дијагонале и износи 0,665 (Графикон 44). Гранична вриједност за вриједности серумског креатинина, односно "cut-off" вриједност када се региструје настанак атеросклеротских плакова у каротидним артеријама износи 118,25 $\mu\text{mol/L}$ уз сензитивност од 67,90% и специфичност од 59,40%.



Графикон 44: ROC анализа настанка каротидног плака зависно од вриједности серумског креатинина

Површина испод ROC криве за вриједности *IMT* се статистички значајно разликује ($p < 0.001$) од површине испод дијагонале за предикцију настанка атеросклеротских плакова у каротидним артеријама и износи 0,771. "Cut-off" вриједност *IMT* износи 1,05 mm уз сензитивност од 71,40% и 75% специфичност (Графикон 45).



Графикон 45: ROC анализа настанка каротидног плака зависно од вриједности интима-медија комплекса

На основу *ROC* анализе може се закључити да најбољу предиктивну вриједност за настанак атеросклеротског плака у каротидним артеријама код наших пацијената имала вриједност *IMT*, док је најслабију предиктивну вриједности имао производ серумског калцијума и фосфата.

5.8. Анализа независних предиктора за настанак патолошког налаза *IMT* и каротидног плака

Бинарном логистичком регресијом су анализирани следећи потенцијални независни предиктори патолошког налаза интима-медија комплекса ($IMT > 0,9$ mm):

- присуство дијабетес мелитуса
- присуство артеријске хипертензије
- животна доб испитаника
- пол испитаника
- серумски калцијум
- серумски фосфат
- производ калцијума и фосфата
- укупна алкална фосфатаза
- *BALP*
- *iPTH*
- *FGF23*
- *eGFR*
- серумски креатинин
- склеростин
- *25(OH)D*

Од наведених параметара, као независни предиктор су се показале године, односно животна доб пацијената ($p=0,001$). Вриједност *Hosmer and Lemeshow Test* од 0,441 упућује на добре карактеристике слагања наведеног модела.

Помоћу бинарне логистичке регресије су исти параметри анализирани и као могући независни предиктори развоја атеросклеротског плака у каротидним артеријама.

Као независни предиктори настанка каротидног плака показали су се:

- артеријска хипертензија ($p=0,041$), $Exp(B)=3230,94$
- године испитаника ($p<0,001$), $Exp(B)=1,22$
- серумски калцијум ($0,043$), $Exp(B)=0,001$
- серумски фосфат ($p=0,026$), $Exp(B)=0,001$
- производ калцијума и фосфата ($p=0,026$), $Exp(B)=4,775E+12$
- *iPTH* ($p=0,013$), $Exp(B)=0,995$
- склеростин ($p=0,016$), $Exp(B)=0,01$.

Као најбољи независни предиктори у овом моделу су се показали присуство артеријске хипертензије и производ серумског калцијума и фосфата. Вриједност *Hosmer and Lemeshow Test* од 0,755 упућује на добре карактеристике слагања наведеног модела.

6. Дискусија

Због пораста инциденце и преваленце, као и многих компликација које носи са собом, хронична болест бубрега чини један од водећих узрока mortalитета глобалне популације данашњег времена. Сложени патофизиолошки механизми који учествују у њеном настанку доводе до оштећења, не само бубрежне функције, него и организма у цјелини. Уз већ постојање коморбидитета, значајно је нарушено здравље и квалитет живота обољелих од ХББ.

Савремена научна истраживања у области нефрологије имају за циљ рану дијагностику бубрежне болести, како би се зауставила или успорила њена даља прогресија и, на тај начин, побољшало преживљавање пацијената. Имајући у виду тешко опште стање које је често присутно код ових пацијената, од посебног значаја је развој мање инвазивних дијагностичких тестова. Са тим циљем, биомаркери раног оштећења бубрега су од посебног интереса.

С обзиром да се први симптоми и знаци бубрежног оштећења јављају тек у унапредовалој бубрежној слабости, биомаркери који би показали дијагностички значај још у раној ХББ, представљали би моћно оружје у борби против ове болести. Биомаркер који би правовремено наговјестио патофизиолошке механизме бубрежних компликација, био би од значаја како за дијагностику бубрежне болести, тако и за откривање пацијената са повећаним mortalитетним ризиком. Последњих година, један од најозбиљнијих кандидата који би могао испунити ове услове је *FGF23*.

Прва експериментална истраживања су показала да *FGF23* има значајну улогу у метаболизму фосфата и витамина *D*. Доказ да је недостатак *FGF23* повезан са настанком хиперфосфатемије, мекоткивених калцификација и лошијим преживљавањем мишева [204], био је довољан да се *FGF23* укључи у клиничка испитивања ради расвјетљења патофизиолошког механизма минерално-коштаног поремећаја у хроничној болести бубрега.

Ово истраживање је спроведено са циљем да се утврди улога *FGF23* у раној дијагностици поремећаја метаболизма минерала и коштане масе код пацијената са ХББ. Студија је обухватила пацијенте из свих пет стадијума ХББ, како би се

утврдило у којем стадијуму болести су присутне повишене вриједности *FGF23*. Такође, на основу процијењене јачине гломерулске филтрације и присутних симптома и знакова болести, пацијенти су потом подијељени у три групе: почетна, манифестна и терминална бубрежна болест, на основу чега је извршена додатна статистичка анализа. Осим *FGF23*, анализирани су и други параметри минерално-коштаног поремећаја.

Досадашње клиничке студије су показале да је *FGF23* повишен у серуму/плазми обољелих од ХББ и да су вриједности *FGF23* повишене раније него вриједности серумског креатинина [205]. Истраживање које је спроведено на нашој популацији пацијената је показало да је ниво *FGF23* повишен још од почетне ХББ, односно од стадијума 1, прије него што су евидентирани промјене других параметара *CKD-MBD* који се користе у свакодневној клиничкој пракси. Вриједности *FGF23* су показале и позитивну корелацију са прогресијом болести бубрега у нашој групи болесника, што је у складу са досадашњим сазнањима да је *FGF23* предиктор прогресије ХББ.

Осим ране детекције ХББ, *FGF23* би могао имати и велики клинички значај у откривању и предвиђању кардиоваскуларног ризика код пацијената са ХББ. Наиме, експериментална истраживања су показала да *FGF23* доводи до настанка хипертрофије лијеве коморе срца код мишева [206]. Повезаност између хипертрофије лијеве коморе срца и *FGF23* потврђена је код пацијената са ХББ [207]. Како хипертрофија лијеве коморе повећава већ постојећи кардиоваскуларни ризик код обољелих од ХББ (хипертензија, хиперволемија, анемија, итд.), јасно је зашто се *FGF23* показао као предиктор прогресије болести и mortalитета пацијената са ХББ [208].

Учесталост коронарних калцификација код пацијената са ХББ је велика. Око 50% пацијената са ХББ који нису на дијализи имају присутне калцификације коронарних артерија [209]. Тај проценат је још и већи код пацијената на дијализи и износи 70-90% [210, 211].

Студија коју су извели Јанда и сарадници је показала да пацијенти са присутним калцификацијама радијалне артерије имају више вриједности каротидног-интима медија комплекса, те да је присуство атеросклеротских плакова у каротидним артеријама независни позитиван предиктор присуства

калцификација радијалних артерија [212]. Гаспар Маркос и сарадници су утврдили повезаност између *IMT* и коронарних калцификација код пацијената са ХББ који нису на дијализи [213]. *IMT > 0,9 mm* упућује на развој процеса атеросклерозе и заједно са присуством плака у каротидним артеријама представља предиктор кардиоваскуларних догађаја, како у општој популацији, тако и код пацијената на хемодијализи [214-217]. Имајући у виду повећан кардиоваскуларни ризик код пацијената са ХББ, као и да су студије о повезаности *IMT* и ране ХББ малобројне, један од циљева овог истраживања је био и да се утврди евентуално присуство патолошког налаза *IMT* у раној ХББ и повезаност између биохемијских параметара минерално-коштаног поремећаја и дебљине *IMT*, односно присуства плакова у каротидним артеријама.

Велики проценат пацијената (40%) у нашој популацији је обољело од шећерне болести типа 2, а дијабетичка нефропатија је била бодећи узрок ХББ (35,63%). Хипертензија, која, такође, представља фактор ризика за настанак бубрежне болести, била је друга по учесталости узрока ХББ (14,94%). У нашој популацији пацијената, чак 91% је лијечено од хипертензије, што наглашава значај ХББ у настанку секундарне артеријске хипертензије и њеног утицаја на прогресију болести. Просјечну вриједност интима-медија комплекса у испитиваној популацији је била изнад нормалних вриједности, што се дијелом може објаснити великом заступљеношћу дијабетес мелитуса и артеријске хипертензије у обухваћеном узроку пацијената.

Анализирајући према стадијуму ХББ, у нашој популацији пацијената вриједности *IMT* су биле значајно повишене почевши од стадијума 2 ХББ, што се слаже са студијом коју су спровели Занг и сарадници, гдје су пацијенти са стадијумом 2 и 3 ХББ имали повишене вриједности *IMT* [218]. Вриједности *IMT*, као ни параметри бубрежне функције, се нису статистички значајно разликовали у односу на пол пацијената. Пацијенти, који су имали нормалне вриједности *IMT* су били млађе животне доби и имали су бољу бубрежну функцију у односу на пацијенте са вриједностима *IMT > 0,9 mm*.

Нормална вриједност каротидног интима-медија комплекса у доби од 10 година износи у просјеку 0.4 до 0.5 mm, док од пете деценије прогредира до 0.7-0.8 mm [219]. Наша студија је потврдила да пацијенти са ХББ имају значајно више

вриједности *IMT* у односу на очекиване вриједности за општу популацију. Дебљина *IMT* је осим са старосном доби и бубрежном функцијом пацијената, позитивно корелирала и са производом серумског калцијума и фосфата и вриједностима паратиреоидног хормона.

Вриједност производа калцијума и фосфата $> 4,4 \text{ mmol}^2/\text{L}^2$ је показана као независни предиктор настанка коронарних калцификација [220]. Препоруке аустралијских и ново-зеландских нефролога (*CARI Guidelines – Caring for Australasians with Renal Impairment*) за пацијенте ХББ стадијума 5 препоручују да производ серумског калцијума и фосфата буде мањи од $4 \text{ mmol}^2/\text{L}^2$ [221]. У нашој популацији испитаника просјечна вриједности производа калцијума и фосфата је била $2,97 \pm 0,84 \text{ mmol}^2/\text{L}^2$, а максимална вриједност је била $5,53 \text{ mmol}^2/\text{L}^2$. Бинарна логистичка регресија је утврдила да је производ серумског калцијума и фосфата био најбољи независни предиктор настанка атеросклеротског плака у каротидним артеријама. Производ серумског калцијума и фосфата је корелирао позитивно са прогресијом ХББ, на основу чега се, уз прогресију и дебљине *IMT*, може закључити да кардиоваскуларни ризик прогредира са прогресијом ХББ.

ROC анализа је показала да су се у нашем узорку пацијената као предиктори настанка патолошких вриједности *IMT* показали старосна доб испитаника и вриједности серумског креатинина, док су предиктори настанка атеросклеротског плака у каротидним артеријама: вриједности *IMT*, серумски креатинин, калцијум и производ серумског калцијума и фосфата. Јанда и сарадници су утврдили повезаност каротидног интима-медија комплекса и година испитаника са ХББ, али без корелације *IMT* и *FGF23* [222]. У нашој студији, *IMT* је позитивно корелирао са годинама испитаника и њиховом бубрежном функцијом. Као и у студији Јанде и сарадника, *IMT* и *FGF23* нису показали корелацију ни код наших пацијената са ХББ.

За разлику од студије која је обухватила кинеску популацију са стадијумима 3 и 4 ХББ, гдје је средња вриједност *IMT* износила $0,81 \pm 0,20 \text{ mm}$ и учесталост каротидних плакова 60% [223], у нашој популацији средња вриједност *IMT* била је $1,10 \pm 0,20 \text{ mm}$ са учесталостју каротидних плакова од око 64%. Један од могућих објашњења за већу учесталост каротидних плакова и вишу средњу вриједност *IMT* у нашој групи испитаника, јесте чињеница да је учесталост

дијабетес мелитуса код наших пацијената била већа (40%) у односу на популацију у наведеној студији (23%). Пацијенти у узнапредовалој ХББ су имали чешће присутне атеросклеротске плакове у односу на пацијенте у ранијим стадијумима болести, што потврђује чињеницу и да је ХББ *per se* фактор ризика кардиоваскуларног морбидитета.

На нашем узорку пацијената није показана значајна корелација између серумског склеростина и вриједности *IMT*, као ни између *FGF23* и вриједности *IMT*, што је слично резултатима досадашњих студија. *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)* студија није показала повезаност између вриједности *FGF23* и еластичности артерија [224]. Такође, *Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC)* студија није показала повезаност између присуства васкуларних калцификација и нивоа *FGF23* [225]. С обзиром на чињеницу да до сада није показана повезаност између *FGF23* и васкуларних поремећаја у оквиру *CKD-MBD*, *FGF23* се за сада може сматрати више миокардним него васкуларним токсином [226], те тако значајним биомаркером када је у питању настанак хипертрофије лијеве коморе срца.

Туран и сарадници су, такође, испитивали повезаност између *FGF23* и присуства коронарних калцификација, као и дебљине интима-медија комплекса каротидних артерија код пацијената на хемодијализи [227]. У њиховој студији није нађена корелација између *FGF23* и атеросклеротског плака у каротидним артеријама, али је вриједности *FGF23* у плазми корелирала са присуством коронарних калцификација. *FGF23* није корелирао ни са *PTH*. Средња вриједност *IMT* била $0,78 \pm 0,20$ mm са учесталостју плакова од 51%. Дијабетичка нефропатија је била узрок код 24% испитаника, док је код наших испитаника заступљеност пацијената са дијабетес мелитусом била значајно виша, 40%.

Поједини аутори су показали да вриједности *FGF23* у плазми корелирају са дебљином интима-медија комплекса код пацијената на перитонеумској дијализи и хемодијализи [228, 229]. Могући узрок постојања различитих корелација је и различита употреба китова за *FGF23*, односно да ли су измјерене вриједности интактног (*i FGF23*) или с-терминалног (*cFGF23*).

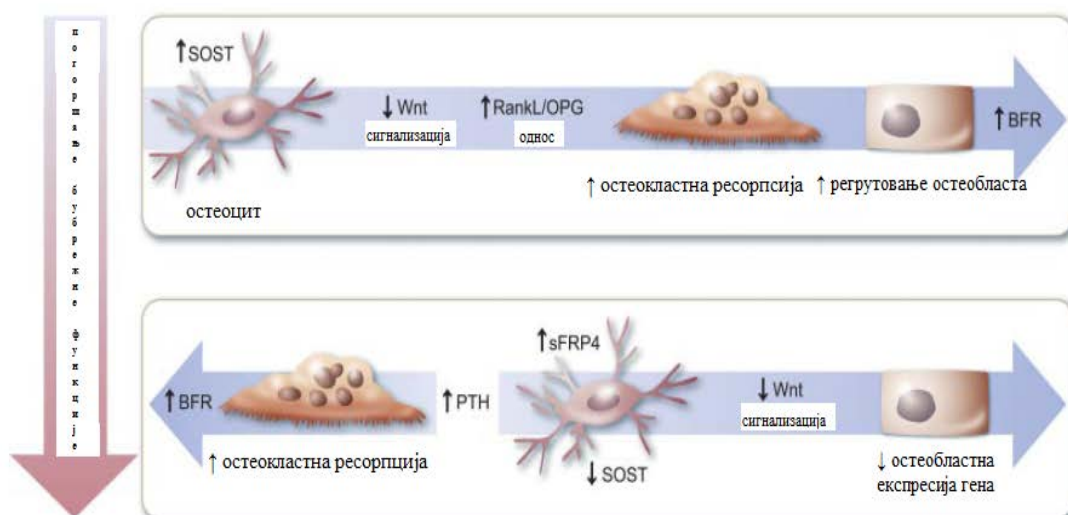
Експерименталне студије о директном утицају *FGF23* на настанак васкуларних калцификација, такође, су опречне. Поједине студије на анималном

моделу су показале да *FGF23* директно индукује настанак васкуларних калцификација код уремијских пацова [230], док друге студије нису показале повезаност између *FGF23* и настанка васкуларних калцификација [231]. Експериментална употреба моноклоналних анти-*FGF23* антителија са циљем смањења нивоа *FGF23*, довела је до већег настанка васкуларних калцификација код пацова, највјероватније због посљедичне хиперфосфатемије [160].

Слично *FGF23*, вриједности серумског склеростина су, такође, биле повишене у раној ХББ наших испитаника у односу на вриједности очекиване за здраву популацију. Киркпантур и сарадници су, такође, утврдили да су вриједности серумског склеростина код пацијената на хемодијализи веће у односу на здраву популацију (1519 ± 1378 vs 128 ± 49 pg/ml, $p < 0.0001$) [201]. Чејка и сар. су закључили да код пацијената са ХББ за сада није у потпуности јасно да ли пораст серумске концентрације склеростина зависи само од реналне ретенције или и појачане продукције склеростина, с обзиром да се са погоршањем бубрежне функције повећава и излучивање склеростина у урину [187].

Поједини аутори су показали да код пацијената са ХББ вриједности склеростина негативно корелирају са гломерулском филтрацијом, независно од вриједности *PTH* [232, 233]. Супротно томе, у нашој популацији пацијената, вриједности склеростина су позитивно корелирале са процијењеном јачином гломерулске филтрације. Бруцесе и сарадници су показали да се склеростин дијализира приликом хемодијализе, након чега се његове вриједности у крви снижавају [234]. Како су наши пацијенти у терминалној ХББ имали ниже вриједности склеростина, може се закључити да је уз супресиван ефекат *PTH*, снижењу вриједности допринос дало и лијечење дијализом.

Досадашњи докази упућују на то да повишена експресија склеростина може да буде рани догађај у *CKD-MBD*, који се дешава прије пораста паратиреоидног хормона [188, 233]. Иако са прогресијом ХББ вриједности *PTH* расту и врше супресију склеростина (Слика 11), ипак вриједности склеростина код пацијената са ХББ остају повишене у односу на здраву популацију [235, 236].



Слика 11: *PTH* врши супресију нивоа склеростина у касној ХББ [модификовано према референци 237]. Легенда: *BFR*(bone formation rate) – брзина формирања кости, *sFRP4* (*Secreted frizzled-related protein 4*) - *WNT* антагониста.

Наведена чињеница је потврђена и у нашој студији, гдје су пацијенти у поченим стадијумима ХББ имали већ повишене вриједности серумског склеростина, док су вриједности *iPTH* биле у референтном опсегу. Са прогресијом ХББ, дошло је до пораста вриједности *iPTH*, што је вјероватно утицало на ниже вриједности серумског склеростина, али које су и даље биле више у односу на здраву популацију.

Неколико студија је утврдило разлику у вриједностима склеростина у односу на пол испитаника и присуство дијабетес мелитуса. У студији коју су извели Пелетир и сарадници, пацијенти са ХББ су имали повишене вриједности склеростина у серуму почевши од стадијума 3 ХББ, а пацијенти мушког пола су имали више вриједности у односу на пацијенте женског пола [233]. Код наших пацијената, вриједности склеростина у серуму су биле повишене још у стадијуму 1 ХББ, а више су биле код пацијената женског пола.

Студија која је обухватила 69 пацијената са типом 1 дијабетес мелитуса је показала да су особе женског пола имале више вриједности серумског склеростина, те да у овој популацији пацијената није показана повезаност између серумског склеростина и маркера коштане преградње, али су вриједности

склеростина биле повезане са развојем макроангиопатије [238]. Гарсиа-Мартин и сар. су пронашли да пацијенти са дијабетес мелитусом типа 2 имају више вриједности серумског склеростина [239]. Анализирајући нашу популацију, није нађена статистички значајна разлика у вриједностима склеростина у односу на присуство шећерне болести. Према студији Киркпантура и сарадника, веће вриједности склеростина биле заступљене код пацијената мушког пола, пацијената са кардиоваскуларним обољењима, са дијабетесом типа 2 и калцификацијама артериовенских фистула, али није нађена значајна корелација са старосном доби, вриједностима калцијума, фосфата и алкалне фосфатазе [201]. Слично њиховој студији, наша студија није утврдила корелацију између склеростина и година пацијената, вриједности калцијума и фосфата, али је нађена значајна негативна корелација са вриједностима укупне алкалне фосфатазе и производа калцијума и фосфата.

У нашој популацији, као што је већ истакнуто, пацијенти женског пола су имале значајно више вриједности серумског склеростина у односу на пацијенте мушког пола. На основу тога, дало би се спекулисати о повезаности повишених вриједности серумског склеростина, као инхибитора коштане изградње, и веће учесталости остеопорозе код пацијената женског пола. Ипак, колики је допринос бубрежне слабости томе, тешко је утврдити, с обзиром да ни коштану денситометрија, која је у широкој употреби у клиничкој пракси, не може да разграничи у којем тренутку коштану болест постаје посљедица бубрежне болести.

Последњих година се активно врши истраживање тачне улоге склеростина у кардиоваскуларном морбидитету и морталитету обољелих од ХББ. Поједини аутори су показали експресију *SOST* гена у зиду калцификованих артерија, као и повезаност између серумског склеростина са васкуларним калцификацијама код пацијената са ХББ, дијабетес мелитусом и реуматоидним артритисом, због чега су предложили склеростин као маркер васкуларних калцификација [240]. *In vitro* студије су показале појачану експресију склеростина током калцификације глатких мишићних ћелија [241]. Лв и сарадници су установили позитивну корелацију између вриједности серумског склеростина и присуства васкуларних калцификација код пацијената са ХББ стадијума 3 и 4 [242]. Слично томе, Бранденбург и сарадници су пронашли значајну повезаност између ткивног и

серумског склеростина са присуством калцификација срчаних залистака код пацијената на хемодијализи, као и локалну продукцију склеростина у ткиву аортне валвуле у близини калцификационих зона [243].

Ипак, када је у питању улога склеростина у настанку васкуларне компоненте *CKD-MBD* и улога у кардиоваскуларном ризику и исходу пацијената са ХББ, досадашње студије су дале неубједљиве резултате. У студији коју су извели Карвало и сарадници, закључено је да је серумски склеростин независни предиктор mortalитета код пацијената на дијализи [244]. *NECOSAD* студија, као и студија коју су спровели Вијен и сарадници, су показали да су повишене вриједности серумског склеростина биле повезане са нижим кардиоваскуларним mortalитетом [245,246]. Слично томе, *CONTRAST* студија је показала да пацијенти на хемодијализи са највишим вриједностима склеростина имају најмањи ризик од mortalитета у односу на пацијенте са најмањом концентрацијом склеростина у серуму [247]. Са друге стране, Новак и сарадници нису установили предвиђање дуготрајног кардиоваскуларног mortalитета [248].

Студија, у којој су учествовале жене са типом 2 дијабетес мелитуса у постменопаузи је показала негативну корелацију серумског склеростина и дебљине интима-медија комплекса, сугеришући да склеростин као модулатор *Wnt*-сигналног пута може пружити заштиту од прогресије васкуларних компликација кроз слабљење усходне регулације β -катенинске активности у васкуларним ћелијама [249]. Код наших пацијената вриједности склеростина нису показале корелацију са вриједностима *IMT*, али су биле нише у каснијим стадијумима ХББ, када су вриједности *IMT* биле значајно више.

Јанг и сарадници су закључили да је циркулишући склеростин негативно повезан са присуством аорних калцификација и будућих кардиоваскуларних догађаја [250]. Аутори су показали и да је серумски склеростин негативно корелирао са *ALP* и *iPTH*, као што је показано и у нашој студији. Негативна корелација склеростина са *iPTH* код наших пацијената складу је са студијама које су закључиле да *iPTH* са прогресијом ХББ врши супресију нивоа склеростина [251]. *NECOSAD* (*Netherlands Cooperative Study on the Adequacy of Dialysis*) и друге студије су, такође, је показала негативну корелацију између серумског склеростина и нивоа *PTH* [245,201].

Најновија студија коју су извели Кришна и сарадници је доказала да експресија *SOST* заправо штити аорту од настанка анеуризме и атеросклерозе код људи [252]. С обзиром да су вриједности серумског склеростина код наших испитаника биле значајно више код особа женског пола, повишене вриједности склеростина би могле бити један од заштитних фактора од настанка кардиоваскуларних догађаја. Ово би могло бити и једно од објашњења зашто је ординирање анти-склеростинских антитијела узроковало повећање mortalитета у експерименталним студијама.

Вриједности склеростина у серуму наших пацијената су негативно корелирале за производом серумског калцијума и фосфата. Ова корелација подржава теорију да повишене вриједности склеростина у ХББ имају за циљ спречавање прогресије васкуларних калцификација.

Поред *FGF23* и склеростина, као нових биомаркера минерално-коштаног поремећаја у ХББ, поремећај метаболизма и других *CKD-MBD* параметара доприноси лошем исходу пацијената обољелих од бубрежне болести. Пацијенти са ХББ имају често недостатак витамина *D*, што су досадашње студије показале као негативан фактор за исход ових пацијената. У клиничкој пракси се код пацијената са ХББ најшечће одређује концентрација *25(OH)D*, с обзиром да циркулишући нивои *1,25(OH)₂D* не обезбјеђују информацију када је у питању нутритивни статус витамина *D* [253].

Вриједности *25(OH)D < 15 ng/ml* дефинисане су као недостатак витамина *D* (дефицит), вриједности *15-30 ng/ml* као инсуфицијентне, док се вриједности *25(OH)D > 30 ng/ml* сматрају као адекватне вриједности витамина *D* [254]. Према *NECOSAD* студији, недостатак витамина *D* код пацијената на хемодијализи је повезан са лошим исходом, прије свега са краткотрајним (6 мјесеци) кардиоваскуларним mortalитетом [255]. *In vitro* студије су утврдиле да калцитриол и његови аналози успоравају остеогени процес у хуманим васкуларним глаткомишићним ћелијама, кога индукују фосфат и *TNF-α (Tumor necrosis factor α)* [256]. Закључак експерименталних студија је да терапија витамином *D* и његовим аналозима (калцитриол, алфакалцидиол и парикалцитол) спречава развој хипертрофије лијеве коморе срца, док парикалцитол додатно успорава настанак фиброзе миокарда, која је кључни фактор развоја дисфункције

миокарда код пацијената са ХББ [257]. Ипак, резултати *PRIMO* студије нису показали да је терапија парикалцитолом довела до промијена индекса масе лијеве коморе, нити је побољшала мјере дијастолне дисфункције код пацијената са ХББ [258].

Осим процјене кардиоваскуларног ризика пацијената мјерењем параметара лијеве коморе срца, спроведене су и студије о повезаности између витамин *D* статуса и васкуларних калцификација. Ли и сарадници су утврдили постојање повезаности између вриједности *25(OH)D* и присуства васкуларних калцификација код пацијената са терминалном ХББ [259]. У наведеној студији, велики проценат пацијената је имао недостатак витамина *D* (78,2%), а 46,2% пацијената је имао присутне васкуларне калцификације шака и/или карлице. Бразилска студија, коју су спровели Диниз и сарадници, је показала да је 21,5% пацијената имало вриједности *25(OH)D* < 15 ng/ml, а 52% вриједности *25(OH)D* 15-30 ng/ml [260]. Када су у питању наши испитаници, њих 21,6% је имало вриједности *25(OH)D* < 30 ng/ml, а 33% пацијената је узимало терапију витамином *D*. Разлог за различите податке у наведеним студијама и нашој је укључивање пацијената са почетним стадијумом болести у нашу студију, док су претходне студије анализирале вриједности у терминалном стадијуму бубрежне болести. Такође, узорковање крви у јуну мјесецу, када има више сунчаних дана је дало утицаја на резултате, који би вјероватно били другачији да је узорковање крви вршено у зимским мјесецима.

Наша студија је испитала повезаност између *25(OH)D* и дебљине *IMT* код пацијената у свим стадијумима ХББ. У нашој популацији вриједности *25(OH)D* нису корелирале нити са вриједностима *IMT*, нити са присуством плакова у каротидним артеријама.

Поједини аутори су показали повезаност између вриједности *25(OH)D* са присуством дијабетес мелитуса, као и разлику у односу на пол испитаника [261]. У нашој популацији није било статистички значајне разлике у вриједностима витамина *D* у односу на пол испитаника ($p = 0,43$), нити у односу на присуство шећерне болести ($p = 0,07$).

Вриједности *FGF23* и склеростина се нису статистички значајно разликовале у односу на вриједности *25(OH)D*. Иако су поједине студије показале

да витамин *D* повећава концентрацију *FGF23* [262], корелација између *FGF23* и *25(OH)D*, као и корелација између склеростина и *25(OH)D* код наших пацијената са ХББ није доказана. Један од разлога би могао бити и употреба терапије витамином *D*, али и друга терапија и коморбидитети који пацијенти имају.

До сада је изведен значајан број студија са намјером да се уз помоћ биохемијских параметара утврди метаболизам костију, нарочито када су у питању пацијенти са ХББ. Као најрелевантнији маркери означени су *BALP* и *iPTH*. Поједини аутори закључују да вриједности *BALP* >20 ng/ml саме или у комбинацији са вриједностима *iPTH* >200 pg/ml, имају највећу сензитивност, специфичност и предиктивну вриједност за дијагнозу коштане болести са убрзаном преградњом [263]. Слично томе, вриједности *BALP* <24 U/L су дефинисане од других аутора као значајне за дијагностику адинамичне болести костију код пацијената на хемодијализи [264].

Ипак, постоје многи фактори који утичу на дијагностичку прецизност ових маркера, као и студије које су дале опречне резултате. На повезаност између *iPTH* и промијена коштаног метаболизма, утичу индекс тјелесне масе, припадност одређеној раси и скелетна резистенција на дјеловање *iPTH* у стању уремије [265, 266]. *iPTH* има динамичан карактер који укључује подложност негативној повратној спрези и релативно кратак полуживот, због чега има велику биолошку варијабилност, која је посебно изражена код пацијената на хемодијализи [267]. Главни дијагностички недостатак *iPTH* огледа се у чињеници да *iPTH* веома слабо може да разликује убрзану од успорене коштане преградње при вриједностима 100-1000 ng/L, у којем распону се и налази вриједности *iPTH* код већине пацијената са ХББ [268].

За разлику од *iPTH*, *BALP* има упола мању биолошку варијабилност [269]. *BALP* одражава активност остеобласта, не акумулира се у крви са погоршањем бубрежне функције, повезана је са коштаном густином [270], коштаном преградњом, одражава коштану хистоморфометрију [271]. Код пацијената на хемодијализи, повишене вриједности *BALP*-а су се показале као користан маркер предвиђања ризика од коштане фрактуре било које локализације [272]. Код наших пацијената, иако у оквиру референтних, вриједности *BALP* су биле више код пацијената са бољом бубрежном функцијом. Како *BALP* одражава активност

остеобласта, наши резултати би говорили у прилог да је и остеобластна функција очувана у почетној ХББ.

Вриједности *BALP* не морају нужно да прате пораст *iPTH* током прогресије ХББ. Постоји више објашњења за присуство нижих вриједности *BALP* са вриједностима *iPTH* > 200 pg/ml: повишене вриједности *iPTH* не морају увијек указивати на убрзану коштану преградњу; ниске вриједности *BALP* највјероватније одражавају смањену продукцију од стране остеобласта у стању уремије; слаб одговор остеобласта на дјеловање *iPTH* због нисходне регулације *PTH*- рецептора на остеобластима; прецјењивање вриједности *iPTH* од стране имуноесеја [273]. Дуланај и сарадници су у својој студији, која је пратила промјене *BALP* и *PTH* код пацијената на хемодијализи, показали да првобитна корелација између *BALP* и *PTH* на почетку студије није постојала након краткорочног (6 недеља) и дугорочног (1 година) периода праћења пацијената [274]. Повезаност између високих вриједности *BALP* и ниских вриједности *PTH* могу указивати на накупљање алуминијума код пацијената на хемодијализи [275]. У нашој студији *iPTH* је показао негативну корелацију са вриједностима *BALP*, које су код већине пацијената биле у оквиру референтних. Изразито високе вриједности *iPTH* нису биле праћене повишеним вриједностима *BALP*, на основу чега, али и на основу резултата наведених студија, закључујемо да ова два параметра нису довољна за утврђивање успореног или убрзаног метаболизма костију.

Поједине студије су истакле *BALP* као користан биомаркер за предвиђање кардиоваскуларних догађаја код пацијената на хемодијализи [276]. У нашој групи пацијената са свима стадијумима ХББ, анализирали смо евентуално присуство повезаности између вриједности *BALP* и *IMT*. Код наших пацијената вриједности *BALP* нису корелирале нити са вриједностима *IMT*, ни са присуством атеросклеротских плакова у каротидним артеријама.

iPTH је у многим студијама анализиран и као предиктор mortalитета код пацијената са ХББ. Раније студије су показале лошији исход пацијената са вишим вриједностима *iPTH*, као и вишим вриједностима *ALP*. Значајно је истаћи да су вриједности *iPTH* показале повезаност са mortalитетом која је имала "U-облик", односно са изразито ниским и изразито високим вриједностима *iPTH*, за разлику

од *ALP*, која је показала линеарну повезаност са морталитетом при вриједностима $> 150 \text{ U/L}$ [277].

Студија Ганеша и сар. је закључила да су повишене вриједности *iPTH* код пацијената са ХББ повезане са развојем кардиомиопатије и кардиоваскуларних догађаја [278]. Ипак, мета-анализа која је укључила 47 кохорних студија и 327 644 пацијената, није показала повезаност између вриједности *iPTH* и морталитета пацијената [279]. Ми смо анализирали повезаност између *iPTH* и присуства ране атеросклерозе код пацијената са ХББ. Код наших пацијената је показана позитивна корелација између *iPTH* и вриједности *IMT*, као и позитивна повезаност са производом калцијума и фосфата. *iPTH* није корелирао са присуством плакова у каротидним артеријама. Код наших пацијената, вриједности *ALP* нису корелирале са вриједностима *IMT*, нити са присуством плакова у каротидним артеријама.

KDIGO препоруке за *CKD-MBD* предлажу циљни опсег $150\text{--}600 \text{ pg/ml}$ за *iPTH* (2-9 пута изнад горњег прага референтних вриједности) [280]. Група пацијената, која је имала вриједности *iPTH* изнад препоручених, имала је и значајно више вриједности серумског калцијума, фосфата, производа калцијума и фосфата ($4,39 \pm 0,99$) и *IMT*, што потврђује значајну улогу паратиреоидног хормона у патофизиолошком процесу *CKD-MBD* и утицаја на кардиоваскуларни ризик код обољелих од ХББ. У клиничкој пракси је потребно направити балас између супресије *iPTH* терапијом витамином *D* и вриједности калцијума и фосфата у серуму, како би се минимално утицало на настанак васкуларних калцификација.

Иако је укупна алкална фосфатаза мање специфична у односу на *BALP*, поједини аутори препорујучују мониторинг серумске алкалне фосфатазе током лијечења поремећаја метаболизма минерала и коштане масе у ХББ. У великој кохортној студији спроведеној у Јапану, висок ниво серумске *ALP* је показао не само независну повезаност са морталитетом, него и са инциденцијом фрактуре кука код пацијената на хемодијализи [281]. Кавсди и сар. су утврдили да су повишене вриједности *ALP* повезане са повећаним морталитетом и коронарним калцификацијама, како код пацијената са претерминалном, тако и код оних са терминалном бубрежном слабошћу [282]. Производ серумског калцијума и фосфата је позитивно корелирао код наших пацијената са вриједностима укупне

ALP, што је у складу са студијама које су оцијениле вриједности *ALP* као предикторе лошег исхода код пацијената са ХББ.

У нашој студији, вриједности *ALP* су показале очекивану позитивну корелацију са вриједностима *iPTH*. Ипак, с обзиром да су и средње вриједности *ALP* и средње вриједности *BALP* биле у оквиру референтних, као и да друга стања могу утицати на вриједности укупне *ALP* (корелација са *CCI*), ови параметри нису довољни за процјену коштаног метаболизма обољелих од ХББ. Они могу уз друге параметре, прије свега вриједности *iPTH*, да омогуће стицање увида у метаболизам кости код индивидуалног пацијента, те да помогну у доношењу одлуке о даљем дијагностичком и терапијском поступку. Биопсија кости, као златни стандард, представља крајњу дијагностичку опцију и препоручује се само онда када ће резултат биопсије имати значај утицај на избор даље терапије пацијената [283].

На основу досадашњих сазнања се може закључити да је тешко донијети дијагностичку одлуку о коштаном метаболизму код пацијената са ХББ на основу биохемијских маркера, тим прије што су типови реналне остеодистрофије неспецифични у односу на стадијум бубрежне болести. Истраживања о повезаности између коштаног метаболизма и нових биомаркера, склеростина и *FGF23*, имају за циљ олакшати процјену типа реналне остеодистрофије.

Када је склеростин у питању, досадашње студије су дале различите резултате. Раније студије су потврдиле улогу склеростина као инхибитора формирања кости. У складу са тим, Чејка и сар. су утврдили да су повишене вриједности склеростима повезане са смањеном коштаном преградњом и бројем остеобласта код пацијената са терминалном бубрежном болешћу [92]. Новија истраживања су показала да пацијенти са већом минералном коштаном густином имају више вриједности склеростина, на основу чега би се могао донијети закључак да би склеростин могао бити релевантан маркер резервоара зрелих остеоцита [284].

Шиави и сар. су закључили да су вриједности склеростина повишене још у почетној ХББ и имају тенденцију одржавања са прогресијом ХББ, што је потврђено и у нашој студији, док је експресија склеростина у костима висока и у убрзаном и у успореном коштаном метаболизму [236]. Многи фактори у оквиру

а

TGF- β
уремијски
токсини,
итд.

FGF23

DKK1

SFRPs

Sclerostin

PTH

β -catenin activity

1 2 3 4 5

стадијуми ХББ

б

TGF- β
уремијски
токсини,
итд.

FGF23

sKlotho

DKK1

SFRPs

Sclerostin

PTH

β -catenin activity

1 2 3 4 5

стадијуми ХББ

Последњих година се активно изучава и улога *FGF23* у поремећају метаболизма кости у ХББ. Студије су показале да је експресија рецептора за склеростин и *PTH*–рецептора у костима повећана у ранијим стадијумима ХББ, док је експресија *FGF23* израженија у каснијим стадијумима ХББ [285].

Студија коју су спровели Малуче и сарадници је показала да се са смањењем гломерулске филтрације код пацијената са ХББ повећава количина остеоида, који представља рани показатељ брзе коштане преградње, тј. *osteitis fibrosa cystica* [287]. Позитивна корелација серумског склеростина *eGFR* и *BALP*

са *eGFR* код наших пацијената се може објаснити дјелимично очуваним метаболизмом кости у почетној ХББ, односно о очуваној равнотежи између процеса разградње и изградње кости. Негативна корелација између серумског склеростина и укупне алкалне фосфатазе, потврђује ставове да је склеростин предиктор бољег, односно алкална фосфатаза лошије исхода у ХББ.

Ипак, као што је напоменуто, за дијагнозу коштане болести у ХББ, златни стандард представља биопсија кости. До сада кориштени маркери коштане изградње и ресорпције се, морају индивидуално анализирати и одлучити о избору терапијског модалитета. Оно што је сигурно, јесте да се кост сада може сматрати новим ендокриним органом у срцу минерално-коштаног поремећаја у хроничној болести бубрега [288].

На основу резултата овога истраживања, може се закључити да, за разлику од *FGF23* и склеростина, чије су повишене вриједности регистроване још у раној ХББ, други параметри минерално-коштаног поремећаја су били у референтним вриједностима до развоја узнатредовалог стадијума ХББ. Анализирајући према стадијуму ХББ, значајно је истаћи да су промјене вриједности фосфата биле присутне тек у стадијуму 5 ХББ, док су патолошке вриједности *PTH* регистроване тек у стадијуму 4 ХББ у нашој популацији пацијената. Имајући у виду да хиперфосфатемија убрзава реналну тубуло-интерстицијалну болест, реналну остеодистрофију, као и кардиоваскуларну болест, те на тај начин, представља важан ризични фактор морталитета код пацијената са хроничном болешћу бубрега [289], јасно је да регистровање хиперфосфатемије представља касно постављену дијагнозу минерално-коштаног поремећаја.

Вриједности серумског калцијума и *25(OH)D* биле су у референтном опсегу у свим стадијумима болести. За разлику од њих, вриједности *FGF23* и склеростина у серуму су биле повишене већ од почетне ХББ, што јасно наглашава њихов значај у раном откривању минерално-коштаног поремећаја у ХББ.

Имајући у виду улогу у настанку хипертрофије лијеве коморе срца, те повезаност са настанком ендотелне дисфункције, васкуларних калцификација, поремећаја когнитивних функција и хроничном инфламацијом у ХББ [290-293], увођење *FGF23* би имао велики клинички значај у раној дијагностици ХББ и

откривању пацијената са повишеним ризиком од нежељених догађаја и лошег исхода.

Дугорочно терапијски гледано, код пацијената са ХББ пожељно је снизити нивое *FGF23*, са обзиром на његов утицај на преживљавање пацијената. Показано је да интензивирани дијализни третмани и трансплантација бубрега побољшавају преживљавање пацијената са терминалном бубрежном болешћу, што се дијелом може објаснити и коригованим вриједностима *FGF23* [294]. Тренутно се препоручују мјере које ће индиректно снизити ниво *FGF23*. Некалцијумски везачи фосфата, лантанум карбонат и севеламер, поред нормализације вриједности серумског фосфата, снижавају и вриједности *FGF23* [295, 296]. Калцимитетици (синакалцет) су ефикасни, не само у снижавању вриједности *PTH*, него и у снижавању *FGF23* [297].

Када је у питању терапија витамином *D*, препоручено је кориштење минималних терапијских доза како би се постигле циљне вриједности *PTH*, те се избјегле повишене вриједности *FGF23* [298]. Употреба *ACE*-инхибитора значајно повећава вриједности *Klotho-a* у серуму обољелих од ХББ, чиме би се могло утицати на побољшање фосфатуричног ефекта *FGF23* [299]. Нови везач фосфата базиран на жељезу, ферик-цитрат, осим што доводи до корекције депоа жељеза у организму, значајно снижава и вриједности *FGF23* у серуму [300].

Покушаји директне блокаде *FGF23* помоћу анти-*FGF23* антитијела нису уродили плодом, јер је показано да је њихова употреба повезана са хиперфосфатемијом, повећањем васкуларних калцификација и повећаним морталитетом експерименталних животиња, због чега је битно одржати фосфатурични ефекат *FGF23* [160]. Селективна блокада *FGFR4* рецептора би могла помоћи у смањењу кардиоваскуларног ризика обољелих од ХББ и допринијети бољем исходу код ових пацијената [301].

Експериментална истраживања на анималном моделу су показала да анти-*FGF23* антитијела, блокирајући *FGF23*, доводе до побољшања квалитета костију мишева, што упућује на значајну улогу *FGF23* и у коштаном метаболизму [302]. Слично томе, ординирање анти-склеростинских антитијела превенира и лијечи губитак трабекуларне и кортикалне кости у експерименталним и клиничким студијама [303]. Међутим, потребно је имају у виду и ванкоштане ефекте

склеростина, те да би његова инхибиција могла довести до лошијих кардиоваскуларних исхода. Све ово потврђује сложеност патофизиологије минерално-коштаног поремећаја у ХББ, било да се ради о сагледавању коштаног или кардиоваскуларног морбидитета, који су веома уско повезани.

Када је у питању увођење склеростина у дијагностику минерално-коштаног поремећаја у клиничкој пракси, потребне су још додатне студије које ће утврдити тачну улогу склеростина у процјени исхода пацијената са ХББ. Разлика у објављеним подацима се може објаснити употребом различитих китова за склеростин, те их је потребно стандардизовати прије евентуалног увођења у клиничку праксу.

За сада се може рећи да су *FGF23* и склеростин рани показатељи минерално-коштаног поремећаја у хроничној бубрежној болести, а не мете на које би требало директно дјеловати и смањити њихове нивое у циркулацији пацијената. Ови биомаркери би могли имати велику улогу у клиничкој пракси, не само као дијагностички алат, него и у праћењу њихових концентрација као индиректном показатељу терапијског дјеловања на њихове рецепторе и патофизиолошке механизме који су резултат њиховог рецепторског везивања.

7. Закључци

На основу спроведеног истраживања на нашој популацији пацијената, могу се донијети следећи закључци:

1. Вриједности серумског *FGF23* и склеростина су повишене од стадијума 1 хроничне болести бубрега, прије промијена вриједности серумског калцијума, фосфата, витамина *D*, *ALP*, *BALP* и *iPTH*.
2. Средња вриједност серумског *FGF23* у испитиваној популацији је износила $80,49 \pm 43,34 \text{ ng/L}$, а склеростина $1,67 \pm 0,44 \text{ ng/mL}$.
3. *FGF23* корелира позитивно, а склеростин негативно са вриједностима серумског креатинина.
4. Код пацијената са стадијумом 1 хроничне болести бубрега *FGF23* негативно корелира са *iPTH*, док код пацијената са стадијумом 2 серумски склеростин позитивно корелира са витамином *D*.
5. *FGF23* позитивно корелира са животном доби пацијената у стадијуму 4 хроничне бубрежне болести, а са склеростином у стадијуму 5.
6. Вриједности серумског *FGF23* нису показале корелацију са вриједностима *Ca*, *P*, витамина *D*, *ALP*, *BALP*, *iPTH*.
7. Вриједности серумског склеростина су показале негативну корелацију са вриједностима производа калцијума и фосфата, *ALP* и *iPTH*.
8. У односу на стадијум хроничне болести бубрега, постоји значајна разлика у односу на вриједности *P*, производа калцијума и фосфата, *iPTH* и *IMT*.
9. Стадијуми хроничне болести бубрега се нису статистички значајно разликовали у односу на вриједности серумског *FGF23* и склеростина.
10. Групе хроничне болести бубрега (почетна, манифестна и терминална) су се

статистички значајно разликовале у односу на вриједности серумског склеростина, фосфата, производа калцијума и фосфата, алкалне фосфатазе, *iPTH* и *IMT*, али не и у односу на вриједности серумског *FGF23*.

11. Пацијенти са вишим вриједностима *iPTH* имају значајније више вриједности калцијума, фосфата и производа калцијума и фосфата.

12. Вриједности *IMT* су повишене од стадијума 2 хроничне болести бубрега.

13. Вриједности серумског *FGF23* и склеростина нису корелирале са вриједностима *IMT*.

14. Вриједности серумског склеростина су биле значајно више код пацијената женског пола.

15. Дебљина *IMT* позитивно корелира са вриједностима фосфата, производа калцијума и фосфата, *iPTH*, животном доби и бубрежном функцијом пацијената.

16. Присуство плакова у каротидним артеријама је позитивно корелирало са вриједностима калцијума, производа калцијума и фосфата, животном доби и бубрежном функцијом пацијената.

17. Вриједности *CKD-MBD* параметара нису показале повезаност са вриједностима *IMT* у свим стадијумима болести.

18. Предиктори настанка патолошких вриједности *IMT* су:

- старосна доб испитаника (гранична вриједност 61,5 година, *ROC* површина 0,765)
- вриједности серумског креатинина (гранична вриједност 126,50 $\mu\text{mol/L}$, *ROC* површина 0,639).

19. Предиктори настанка атеросклеротског плака у каротидним артеријама су:

- вриједности *IMT* (гранична вриједност 1,05 *mm*, *ROC* површина 0,771)
- серумски креатинин (гранична вриједност 118,25 $\mu\text{mol/L}$, *ROC* површина 0,665)
- калцијум (гранична вриједност 2,31 *mmol/L*, *ROC* површина 0,683)
- производ серумског калцијума и фосфата (гранична вриједност 2,77 mmol^2/L^2 , *ROC* површина 0,627).

20. Најбољи независни предиктор за настанак патолошког налаза *IMT* је животна доб испитаника, а најбољи независни предиктори за настанак атеросклеротског плака су присуство артеријске хипертензије и производ серумског калцијума и фосфата.

8. Литература

- [1] Rose BD, Post TW. Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders, 5th ed, McGraw-Hill, New York 2001. p.50.
- [2] Available from: <https://www.uptodate.com/contents/calculation-of-the-creatinine-clearance>.
- [3] Cockcroft, D.W. and M.H. Gault. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron. 1976. 16(1):31-41.
- [4] National Kidney Foundation. Available from: https://www.kidney.org/professionals/KDOQI/gfr_calculatorCoc.
- [5] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group . Annals of Internal Medicine. 1999; 130 (6): 461–70.
- [6] National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. American Journal of Kidney Diseases. 2002. 39 (2 Suppl 1): S1–266.
- [7] Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. Annals of Internal Medicine. 2004; 141 (12): 929–37.
- [8] Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, et al. Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. Annals of Internal Medicine. 2006; 145 (4): 247–54.
- [9] Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. Ann Intern Med 2009;150:604-12.
- [10] National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney disease. Available from: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/health-communication-programs/nkdep/lab-evaluation/gfr/estimating/Pages/estimating.aspx>
- [11] Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2010; (5): S23–S30.

- [12] Institute of Medicine Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board: Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride, Washington, DC, National Academy Press, 1997.
- [13] Wang L, Nancollas GH, Henneman ZJ. Nanosized particles in bone and dissolution insensitivity of bone mineral. *Biointerphases*. 2006; 1: 106–111.
- [14] McCormick CC. Passive diffusion does not play a major role in the absorption of dietary calcium in normal adults. *J Nutr* 2002; 132: 3428–3430.
- [15] Brown EM. The calcium-sensing receptor: physiology, pathophysiology and CaR-based therapeutics. *Subcell Biochem*. 2007;45: 139–167.
- [16] Kiela PR, Ghishan FK. Recent advances in the renal-skeletal-gut axis that controls phosphate homeostasis. *Lab Invest*. 2009;89:7-14.
- [17] Waheed AA, Pedraza F, Lenz O, Isakova T. Phosphate control in end-stage renal disease: barriers and opportunities. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28:2961-8.
- [18] Uribarri J. Phosphorus homeostasis in normal health and in chronic kidney disease patients with special emphasis on dietary phosphorus intake. *Semin Dial*. 2007;20:295-301.
- [19] Goretti M, Penido MG, Alon US. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatr Nephrol*. 2012. 27:2039–2048.
- [20] Pfister MF, Lederer E, Forgo J, et al. Parathyroid hormone-dependent degradation of type II Na⁺/Pi cotransporters. *J Biol Chem*. 1997;272(32):20125.
- [21] Penido MGMG, Alon US. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatr Nephrol*. 2012; 27:2039–48.
- [22] Pazirandeh S, Buns DL. Overview of vitamin D. UpToDate 2017. Wolters Kluwer. [25 March 2017]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-vitamin-d?source=search_result&search=vitamin%20d&selectedTitle=2~150.
- [23] Institute of Medicine. Report at a Glance, Report Brief: Dietary reference intakes for calcium and vitamin D, released 11/30/2010. <http://www.iom.edu/Reports/2010/Dietary-Reference-Intakes-for-Calcium-and-Vitamin-D/Report-Brief.aspx>
- [24] Zehnder D, Bland R, Walker EA, et al. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in the human kidney. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(12):2465.

- [25] Hewison M, Burke F, Evans KN, et al. Extra-renal 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in human health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007;103(3-5):316.
- [26] Portale AA, Halloran BP, Morris RC Jr. Physiologic regulation of the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D by phosphorus in normal men. *J Clin Invest.* 1989;83(5):1494.
- [27] Prié D, Friedlander G. Reciprocal control of 1,25-dihydroxyvitamin D and FGF23 formation involving the FGF23/Klotho system. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(9):1717.
- [28] Zierold C, Darwish HM, DeLuca HF. Identification of a vitamin D-response element in the rat calcidiol (25-hydroxyvitamin D3) 24-hydroxylase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(3):900.
- [29] Yoshiko Y, Candelieri GA, Maeda N, Aubin JE. Osteoblast autonomous Pi regulation via Pit1 plays a role in bone mineralization. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 4465—74.
- [30] Millán JL. In *Mammalian alkaline phosphatases: from biology to applications in medicine and biotechnology*. 2006. Wiley-VCH Verlag. Weinheim.
- [31] F. Saraç, F. Saygılı. Causes of High Bone Alkaline Phosphatase. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2007;21(2):194-7.
- [32] Rezende LA, Ciancaglini P, Pizauro JM, Leone FA. Inorganic pyrophosphate-phosphohydrolytic activity associated with rat osseous plate alkaline phosphatase. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 1998; 44: 293Y302.
- [33] Orimo H, Shimada T. Posttranscriptional modulation of the human tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in MG-63 osteoblastic osteosarcoma cells. *Nutr Res* 2006; 26: 227—34.
- [34] Murshed M, McKee MD. Molecular determinants of extracellular matrix mineralization in bone and blood vessels. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010; 19:359—365.
- [35] Lomashvili KA, Garg P, Narisawa S, Millán JL, O'Neill WC. Upregulation of alkaline phosphatase and pyrophosphate hydrolysis: potential mechanism for uremic vascular calcification. *Kidney Int* 2008; 73:1024—30.
- [36] Anderson HC. Molecular biology of matrix vesicles. *Clin Orthop Rel Res* 1995; 314: 266—280.

- [37] Orimo H. The Mechanism of Mineralization and the Role of Alkaline Phosphatase in Health and Disease. *J Nippon Med Sch* 2010; 77: 4—12.
- [38] Kirsch T, Harrison G, Golub EE, Nah H-D. The roles of annexins and type II and X collagen in matrix vesicle-mediated mineralization of growth plate cartilage. *J Biol Chem* 2000; 275: 35577—35583.
- [39] Guicheux J, Palmer G, Shukunami C, Hiraki Y, Bonjour JP, Caverzasio J. A novel in vitro culture system for analysis of functional role of phosphate transport in endochondral ossification. *Bone* 2000; 27: 69—74.
- [40] Magnusson P, Larsson L, Magnusson M, Davie MWJ, Sharp CA. Isoforms of Bone Alkaline Phosphatase: Characterization and Origin in Human Trabecular and Cortical Bone. *J Bone Miner Res.* 1999 Nov;14(11):1926-33.
- [41] Potts JT, Juppner H. Parathyroid hormone: Molecular biology and regulation. In: *Principles of Bone Biology*, Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (Eds), Academic Press, San Diego 1996. p.325.
- [42] Fuleihan GE, Brown EM. Parathyroid hormone secretion and action. UpToDate. 2017. Wolters Kluwer. [25 March 2017]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/parathyroid-hormone-secretion-and-action?source=search_result&search=parathyroid%20hormone&selectedTitle=2~150.
- [43] Brown EM, Pollak M, Seidman CE, et al. Calcium-ion-sensing cell-surface receptors. *N Engl J Med.* 1995;333(4):234.
- [44] Habener JF, Kemper BW, Rich A, Potts JT Jr. Biosynthesis of parathyroid hormone. *Recent Prog Horm Res.* 1976;33:249.
- [45] Murray TM, Rao LG, Divieti P, Bringhurst FR . Parathyroid hormone secretion and action: evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl- terminal ligands. *Endocr Rev.* 2005;26(1):78.
- [46] D'Amour P. Acute and chronic regulation of circulating PTH: significance in health and in disease. *Clin Biochem.* 2012;45(12):964-9.
- [47] D.Naveh-Many T, Friedlaender MM, Mayer H, Silver J. Calcium regulates parathyroid hormone messenger ribonucleic acid (mRNA), but not calcitonin mRNA in vivo in the rat. Dominant role of 1,25-dihydroxyvitamin. *Endocrinology.* 1989;125(1):275.

- [48] Naveh-Many T, Rahamimov R, Livni N, Silver J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, and vitamin D. *J Clin Invest.* 1995;96(4):1786.
- [49] Alon US. Clinical practice: Fibroblast growth factor (FGF) 23: a new hormone. *Eur J Pediatr.* 2011;170:545–54.
- [50] Donate-Correa J, Mora-Fernández C, Martínez-Sanz R, et al. Expression of FGF23/KLOTHO system in human vascular tissue. *Int J Cardiol* 2013;165(1):179-83.
- [51] Kovesdy CP, Quarles LD. Fibroblast growth factor-23: what we know, what we don't know, and what we need to know. *NDT.* 2013;8(9):2228-36.
- [52] Diniz H, Frazão JM. The role of Fibroblast Growth Factor 23 in chronic kidney diseasemineral and bone disorder. *Nefrologia* 2013;33(6):835-44.
- [53] Rodriguez M, Lopez I, Munoz J, Aguilera-Tejero E, Almaden Y. FGF23 and mineral metabolism, implications in CKD-MBD. *Nefrologia.* 2012;32(3):275-8.
- [54] Kawata T, Imanishi Y, Kobayashi K, et al. Parathyroid hormone regulates fibroblast growth factor-23 in a mouse model of primary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol.* 2007 Oct;18(10):2683-8.
- [55] Yoshiko Y, Wang H, Minamizaki T et al. Mineralized tissue cells are a principal source of FGF23. *Bone* 2007; 40: 1565–73.
- [56] Clinkenbeard EL, White KE. Heritable and acquired disorders of phosphate metabolism: Etiologies involving FGF23 and current therapeutics. *Bone.* 2017. pii: S8756-3282(17)30034-0.
- [57] Farrow EG, Davis SI, Summers LJ, White KE. Initial FGF23-mediated signaling occurs in the distal convoluted tubule. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;20:955–60.
- [58] Shimada T, Urakawa I, Yamazaki Y, et al. FGF23 transgenic mice demonstrate hypophosphatemic rickets with reduced expression of sodium phosphate cotransporter type IIa. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 314: 409–14.
- [59] Bowe AE, Finnegan R, Jan de Beur SM, Levine MA, Kumar R, Schiavi SC. FGF23 inhibits renal tubular phosphate transport and is a PHEX substrate. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 284: 977–81.
- [60] Perwad F, Zhang MY, Tenenhouse HS, Portale AA. Fibroblast growth factor 23 impairs phosphorus and vitamin D metabolism in vivo and suppresses 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase expression in vitro. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007; 293: 1577–83.

- [61] Andrukhova O, Smorodchenko A, Egerbacher M, et al. FGF23 promotes renal calcium reabsorption through the TRPV5 channel. *EMBO* 2014; 33: 229–46.
- [62] Andrukhova O, Slavic S, Smorodchenko A, et al. FGF23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO*. 2014; 6: 744–59.
- [63] Meir T, Durlacher K, Pan Z, et al. Parathyroid hormone activates the orphan nuclear receptor Nurr1 to induce FGF23 transcription. *Kidney Int*. 2014; 86: 1106–15.
- [64] Van Venrooij NA, Pereira RC, Tintut Y, et al. FGF23 protein expression in coronary arteries is associated with impaired kidney function. *Nephrol Dial Transplant* (2014) 29: 1525–32.
- [65] Evenepoel P, D'Haese P, Brandenburg V. Sclerostin and DKK1: new players in renal bone and vascular disease. *Kidney Int* 2015;88:235-40.
- [66] Kestler HA, Kuhl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signalling network. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*.2008; 363: 1333–47.
- [67] Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. Sclerostin and Dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. *Endocr Rev* 2012; 33: 747–783.
- [68] Hay E, Bouaziz W, Funck-Brentano T, et al. Sclerostin and Bone Aging: Mini-Review. *Gerontology* 2016;62:618–623.
- [69] Monroe DG, McGee-Lawrence ME, Oursler MJ, Westendorf JJ. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene*. 2012. 492:1–18.
- [70] Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med* 2013; 19: 179–92.
- [71] Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, et al. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science*. 2007; 315:1278–82.
- [72] Brandenburg VM, D'Haese P, Deck A, et al. From skeletal to cardiovascular disease in 12 steps—the evolution of sclerostin as a major player in CKD-MBD. *Pediatr Nephrol*. 2016; 31:195–206.
- [73] Drake MT, Khosla S. Hormonal and systemic regulation of sclerostin. *Bone*. 2017;96:8–17.
- [74] Wan M, Yang C, Li J, et al. Parathyroid signaling through lowdensity lipoprotein-related protein 6. *Genes Dev*. 2008;22:2968–79.
- [75] Glass DA, Bialek P, Ahn JD, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell*. 2005; 8:751–64.

- [76] Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *Faseb J.* 2005; 19 (13): 1842-4.
- [77] Suen PK, Qin L. Sclerostin, an emerging therapeutic target for treating osteoporosis and osteoporotic fracture: A general review. *Journal of Orthopaedic Translation.* 2016;4,1e13.
- [78] Guanabens H, Riuz-Gaspa S, Gifre L, et al. Sclerostin expression in bile ducts of patients with chronic cholestasis may influence the bone disease in primary biliary cirrhosis. *J. Bone Miner. Res.* 2016;31(9):1725-33.
- [79] Zhu D, Mackenzie NCW, Millan JL, Farguharson C, MacRae VE. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. *PLoS One.* 2011;6(5):e19595.
- [80] Ferreira JC, Ferrari GO, Neves KR, et al. Effects of dietary phosphate on adynamic bone disease in rats with chronic kidney disease—role of sclerostin? *PLoS One.* 2013. 8:e79721.
- [81] Kanbay M, Siriopol D, Saglam M et al. Serum sclerostin and adverse outcomes in non-dialyzed chronic kidney disease patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99: E1854–E1861.
- [82] de Oliveira RB, Graciolli FG, dos Reis LM et al. Disturbances of Wnt/beta-catenin pathway and energy metabolism in early CKD: effect of phosphate binders. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 2510–2517.
- [83] Modder UI, Hoey KA, Amin S et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 373–379.
- [84] Roforth MM, Fujita K, McGregor UI et al. Effects of age on bone mRNA levels of sclerostin and other genes relevant to bone metabolism in humans. *Bone* 2014; 59: 1–6.
- [85] Wu PC, Zheng CM, Liao MT, et al. Bone Turnover and Vascular Calcification. *J Nephrol Ther* 2014, 4:171.
- [86] Liu WC, Yen JF, Lang CL2, Yan MT3, Lu KC4. Bisphosphonates in CKD patients with low bone mineral density. *ScientificWorldJournal.* 2013: 837573.
- [87] Calvo MS, Eyre DR, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev* 1996; 17: 333-68.

- [88] Anderson HC. Matrix vesicles and calcification. *Curr Rheumatol Rep.* 2003; 5:222-6.
- [89] Taylor AK, Lueken SA, Libanati C, Baylink DJ. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum Dis Clin North.* 1994; Am 20: 589-607.
- [90] Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007;9 Suppl 1: S1.
- [91] Negishi-Koga T, Shinohara M, Komatsu N, et al. Suppression of bone formation by osteoclastic expression of semaphorin 4D. 2011; *Nat Med* 17: 1473-1480.
- [92] Cejka D, Herberth J, Branscum AJ, et al. Sclerostin and Dickkopf-1 in renal osteodystrophy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011; 6: 877-82.
- [93] Esmon CT. The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thromb Res.* 2004; 114: 321-7.
- [94] Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: Key roles for calcium and phosphate. *Circ Res.* 2011;109:697-711.
- [95] Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL, et al. Kidney disease as a risk faktor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation.* 2003;108:2154-69.
- [96] Available from: <http://www.xraymachines.info/article/785259514/chronic-kidney-disease-definition-causes-symptoms-staging-complications-and-treatment/>
- [97] KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney international supplements.* 2013; 3(1):10. Available from: <http://www.kidney-international.org>
- [98] NKF KDOQI GUIDELINES. Available from: http://www2.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm
- [99] de Jong PE, van der Velde M, Gansevoort RT, Zoccali C. Screening for chronic kidney disease: Where does Europe go? *Clin J Am Soc Nephrol* 3.2008; 616-23.
- [100] National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39: S1-S266, (suppl 1).

- [101] Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis* 2003; 41(1):1–12.
- [102] Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA*.2007;298(17): 2038-47.
- [103] Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet* 2012;379(9811):165-80.
- [104] Liyanage T, Ninomiya T, Jha V, et al. Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review. *Lancet* 2015; 385: 1975–82.
- [105] Otero A, de Francisco A, Gayoso P, Garcia F. Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrologia*. 2010; 30(1):78-86.
- [106] Hallan SI, Coresh J, Astor BC, Asberg A, Powe NR, Romundstad S, et al. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17: 2275–84.
- [107] Hillege HL, Janssen WM, Bak AA, Diercks GF, Grobbee DE, Crijsns HJ, et al. Microalbuminuria is common, also in a nondiabetic, nonhypertensive population, and an independent indicator of cardiovascular risk factors and cardiovascular morbidity. *J Intern Med*. 2001; 249: 519–26.
- [108] Zdrojewski L, Zdrojewski T, Rutkowski M, Bandosz P, Krol E, Wyrzykowski B, et al. Prevalence of chronic kidney disease in a representative sample of the Polish population: results of the NATPOL 2011 survey. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;0:1-7.
- [109] Kearns B, Gallagher H, de Lusignan S. Predicting the prevalence of chronic kidney disease in the English population: a cross-sectional study. *BMC Nephrology* 2013, 14:49.
- [110] Gasparini A, Evans M, Coresh J, Grams ME, Norin L, Qureshi AR, et al. Prevalence and recognition of chronic kidney disease in Stockholm healthcare. *Nephrol Dial Transplant* (2016) 31: 86–2094.
- [111] Brück K, Stel VS, Gambaro G, Hallan S, Völzke H, Arnlöv J, et al. CKD prevalence varies across the European general population. *J Am Soc Nephrol*. 2016 Jul; 27(7):2135-47.
- [112] Singh AK, Farag YMK, Mittal BV, Subramanian KK, Reddz SRK, Acharya VN, et al. Epidemiology and risk factors of chronic kidney disease in India –

- results from the SEEK (Screening and early evaluation oof kidney disease) study. BMC Nephrology.2013;14:114.
- [113] Hwang SJ, Tsai JC, Chen HC. Epidemiology, impact and preventive care of chronic kidney disease in Taiwan. Nephrology.2010;15:3-9.
- [114] Zhang QL, Rothenbacher D. Prevalence of chronic kidney disease in population-based studies: systematic review. BMC Public Health.2008;8:117.
- [115] Hallan SI, Vikse BE. Relationship between chronic kindey disease prevalence and end-stage renal disease risk. Curr Opin Nephrol Hypertens.2008;17(3):286-91.
- [116] Resic H, Mesic E. Trends in renal replacement therapy in Bosnia and Herzegovina 2002-2008. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences 2010;10 (Suppl 1):S18-S22.
- [117] Available from: <http://www.globaldialysis.com/dialysis-world-news.html?start=54>
- [118] Raubenheimer EJ, Noffke CE, Hendrik HD. Chronic kidney disease-mineral bone disorder: an update on the pathology and cranial manifestations. J Oral Pathol Med.2015;44(4):239-43.
- [119] Available from: <http://www.era-edtaworkinggroups.org/en-US/group/ckd-mbd#sthash.ca667kZQ.dpbs>.
- [120] Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, et al. The role of vitamin D in the FGF23, klotho, and phosphate bone-kidney endocrine axis. Rev. Endocr. Metab. Disord. 2012, 13, 57–69.
- [121] Messa P. FGF23 and vascular calcifications: another pice of the puzzle. Nephrol Dial Transplant. 2014; 29: 1447–9.
- [122] Yamashita H, Yamashita T, Miyamoto M, Shigematsu T, Kazama JJ, Shimada T, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-23 in patients with primary hyperparathyroidism. European Journal of Endocrinology. 2004; 151:55-60.
- [123] Hruska KA, Choi ET, Memon I, et al. Cardiovascular risk in chronic kidney disease (CKD): the CKD-mineral bone disorder (CKD-MBD). Pediatr Nephrol.2010;25:769-78.
- [124] Lau WL. Direct effects of phosphate on vascular cell function. In: Pai A, Giachelli CM (eds). Advances in Chronic Kidney Disease.2011.

- [125] Block G, Hulbert-Sheaton T, Levin N, et al. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis.* 1998;31:607-17.
- [126] Russo D, Miranda I, Ruocco C, et al. The progression of coronary artery calcification in predialysis patients on calcium carbonate or sevelamer. *Kidney Int.* 2007;72:1255-61.
- [127] Waheed AA, Pedraza F, Lenz O, Isakova T. Phosphate control in end-stage renal disease: barriers and opportunities. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28:2961-8.
- [128] Yamada S, Tokumoto M, Taniguchi M. Decreased expression of calcium-sensing receptor and parafibromin in secondary hyperparathyroidism with an abnormal whole PTH/intact PTH ratio. *Clin Kidney J.* 2013;6: 429–32.
- [129] Nikolov IG, Mozar A, Drueke TB, Massy ZA. Impact of disturbances of calcium and phosphate metabolism on vascular calcification and clinical outcomes in patients with chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2009; 27:350-9.
- [130] Martin KJ, Floege J, Ketteler M. Bone and mineral metabolism in chronic kidney disease. *Abdominal Key. Fastest Abdominal Insight Engine.* Available from: <https://abdominalkey.com/bone-and-mineral-metabolism-in-chronic-kidney-disease/> Aupdated: June 4, 2016. (20 May 2017).
- [131] Brandenburg VM, Floege J. Adinamic bone disease-bone and beyond. *NDT Plus.* 2008; 3: 135–147.
- [132] Spasovski GB. Bone biopsy as a diagnostic tool in the assessment of renal osteodystrophy. *Int J Artif Organs* 2004; 27: 918–23.
- [133] Torres PU, Bover J, Mazzaferro S, de Vernejoul MC, Cohen-Solal M (2014). "When, how, and why a bone biopsy should be performed in patients with chronic kidney disease." *Semin Nephrol* 34 (6): 612–25.
- [134] Jadoul M, Albert JM, Akiba T et al. Incidence and risk factors for hip or other bone fractures among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 2006; 70: 1358–66.
- [135] Moorthi RN, Moe SM. Recent advances in the noninvasive diagnosis of renal osteodystrophy. *Kidney Int.* 2013;84:886–94.
- [136] Drüeke TB, Massy ZA. Changing bone patterns with progression of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2016;89: 289–302.

- [137] Barreto FC, Barreto DV, Canziani ME, et al. Association between indoxyl sulfate and bone histomorphometry in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *J Bras Nefrol.* 2014;36:289–96.
- [138] Malluche HH, Mawad H, Monier-Faugere MC. Effects of treatment of renal osteodystrophy on bone histology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(suppl 3):S157–S163.
- [139] Frazao JM, Martins P. Adynamic bone disease: clinical and therapeutic implications. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2009;18:303–7.
- [140] de Oliveira RA, Barreto FC, Mendes M, et al. Peritoneal dialysis per se is a risk factor for sclerostin-associated adynamic bone disease. *Kidney Int.* 2015;87:1039–45.
- [141] Thambiah S, Roplekar R, Manghat P et al. Circulating sclerostin and Dickkopf-1 (DKK1) in predialysis chronic kidney disease (CKD): relationship with bone density and arterial stiffness. *Calcif Tissue Int* 2012; 90: 473–480.
- [142] Ardawi MS, Akhbar DH, Alshaikh A, et al. Increased serum sclerostin and decreased serum IGF-1 are associated with vertebral fractures among postmenopausal women with type-2 diabetes. *Bone.* 2013;56:355–362.
- [143] Lima F, El-Husseini A, Monier-Faugere MC, et al. FGF-23 serum levels and bone histomorphometric results in adult patients with chronic kidney disease on dialysis. *Clin Nephrol.* 2014;82:287–95.
- [144] Goldenberg I, Moss A.J., McNitt S., et al., Relations among renal function, risk of sudden cardiac death, and benefit of the implanted cardiac defibrillator in patients with ischemic left ventricular dysfunction, *Am. J. Cardiol.* 2006; 98 (4):485–90.
- [145] Hsueh CH, Chen NX, Lin SF, et al. Pathogenesis of arrhythmias in a model of CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* (2014); 25(12): 2812–2821.
- [146] Zhao Y, Chen NX, Shirazi JT, et al. Subcutaneous nerve activity and mechanisms of sudden death in a rat model of chronic kidney disease. *Heart Rhythm.* 2016;13(5):1105–12.
- [147] Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on fgf23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:1427-35.
- [148] Wolf M. Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012;82:737-47.

- [149] Pereira RC, Juppner H, Azucena-Serrano CE, et al. Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease. *Bone* 2009; 45: 1161–8.
- [150] Silver J, Naveh-Many T. FGF-23 and secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. *Nat. Rev. Nephrol.* 2013; 9:641–9.
- [151] Touchberry CD, Green TM, Tchikrizov V, et al. FGF23 is a novel regulator of intracellular calcium and cardiac contractility in addition to cardiac hypertrophy. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013; 304 (8):E863–E873.
- [152] Leifheit-Nestler M, Siemer R, Flasbart K, et al. Induction of cardiac FGF23/FGFR4 expression is associated with left ventricular hypertrophy in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* (2015) 0: 1–12.
- [153] Grabner A, Amaral AP, Schramm K et al. Activation of cardiac fibroblast growth factor receptor 4 causes left ventricular hypertrophy. *Cell Metab* 2015; 22: 1020–32.
- [154] Seiler S, Cremers B, Rebling NM, et al. The phosphatonin fibroblast growth factor 23 links calcium-phosphate metabolism with left-ventricular dysfunction and atrial fibrillation. *Eur. Heart J.* 2011;32:2688–96.
- [155] Saab G, Whooley M, Schiller N, Ix J. Association of serum phosphorus with left ventricular mass in men and women with stable cardiovascular disease: data from the heart and soul study. *Am. J. Kidney Dis.* 2010; 56(3):496–505.
- [156] Mehta R, Cai X, Lee J, et al. Association of Fibroblast Growth Factor 23 With Atrial Fibrillation in Chronic Kidney Disease, From the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *JAMA Cardiol.* 2016;1(5):548-556.
- [157] Wohlfahrt P, Melenovsky V, KotrcMet al. Association of fibroblast growth factor-23 levels and angiotensin-converting enzyme inhibition in chronic systolic heart failure. *JACC Heart Fail* 2015; 3: 829–839.
- [158] Gruson D, Ferracin B, Ahn SA et al. Comparison of fibroblast growth factor 23, soluble ST2 and galectin-3 for prognostication of cardiovascular death in heart failure patients. *Int J Cardiol* 2015; 189: 185–187.
- [159] Haffner D, Leifheit-Nestler M. Extrarenal effects of FGF23. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(5):753-65.
- [160] Shalhoub V, Shatzen EM, Ward SC, et al. FGF23 neutralization improves chronic kidney disease-associated hyperparathyroidism yet increases mortality. *J. Clin. Invest.* 2012;122(7): 2543–53.

- [161] Di Marco GS, Hausberg M, Hillebrand U, et al. Increased inorganic phosphate induces human endothelial cell apoptosis in vitro. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2008; 29:F1387–F1387.
- [162] Crouthamel MH, Lau WL, Leaf EM, et al. Sodium-dependent phosphate cotransporters and phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells: redundant roles for PiT-1 and PiT-2. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013;33(11):2625–32.
- [163] Lim K, Lu TS, Molostvov G, et al. Vascular klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation.* 2012; 125(18):2243–55.
- [164] Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH, et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;20(2):381–7.
- [165] Foley R, Collins A, Herzog CA, Ishani A, Kalra P. Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 397–404.
- [166] Voigt M, Fischer DC, Rimpau M et al. Fibroblast growth factor (FGF)-23 and fetuin-A in calcified carotid atheroma. *Histopathology* 2010; 56: 775–88.
- [167] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.
- [168] O'Neill WC, Lomashvili KA. Recent progress in the treatment of vascular calcification. *Kidney Int.* 2010;78:1232-9. Persy V, D'Haese P. Vascular calcification and bone disease: The calcification paradox. *Trends Mol Med.* 2009;15:405-16.
- [169] Fischer DC, Behets GJ, Hakenberg OW, Voigt M, Vervaet BA, Robijn S, et al. Arterial microcalcification in atherosclerotic patients with and without chronic kidney disease: A comparative high-resolution scanning x-ray diffraction analysis. *Calcif Tissue Int.* 2012;90:465-72.
- [170] Lu KC, Wu CC, Yen JF, Liu WC. Vascular Calcification and Renal Bone Disorders. *ScientificWorldJournal.* 2014;2014:637065.
- [171] Hofbauer LC, Brueck CC, Shanahan CM, Schoppet M, Dobnig H. Vascular calcification and osteoporosis-from clinical observation towards molecular understanding. *Osteoporos Int.* 2007;18:251-9.

- [172] Chen NX, Moe SM. Vascular calcification: pathophysiology and risk factors. *Curr.Hypertens.Rep.* 2012;14(3):228–37. Moe SM. Calcium as a cardiovascular toxin in CKD-MBD. *Bone* 2016; <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2016.08.022>.
- [173] Forster IC, Hernando N, Biber J, Murer H. Phosphate transporters of the SLC20 and SLC34 families. *Mol. Asp. Med.* 2013;34(2–3):386–395.
- [174] Wallingford MC, Chia J, Leaf EM, et al. SLC20A2 deficiency in mice leads to elevated phosphate levels in cerebrospinal fluid and glymphatic pathway-associated arteriolar calcification, and recapitulates human idiopathic basal ganglia calcification. *Brain Pathol.* 2017;27(1):64-76.
- [175] Giachelli CM. Vascular calcification: In vitro evidence for the role of inorganic phosphate. *J AmSoc Nephrol.*2003; 14(9Suppl4): S300–4.
- [176] Moe SM, Duan D, Doehle BP, O'Neill KD, Chen NX. Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels. *Kidney Int.* 2003; 63(3):1003–11.
- [177] Collin-Osdoby P. Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circ Res.* 2004; 95: 1046–57.
- [178] Tsirpanlis G. Is inflammation the link between atherosclerosis and vascular calcification in chronic kidney disease? *Blood Purif.* 2007;25:179-82.
- [179] Gough PJ, Gomez IG, Wille PT, Raines EW. Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2006; 116: 59–69.
- [180] Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, Rattazzi M, Varon RM, Averill M, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE –/– mice. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26: 2117–24.
- [181] Yamada S, Giachelli CM. Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho. *Bone* (2016). <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2016.11.012>.
- [182] Paloian NJ, Giachelli CM. A current understanding of vascular calcification in CKD. *Am. J. Physiol. Ren. Physiol.* 2014; 307(8):F891–F900.
- [183] Dai B, David V, Martin A et al. A Comparative Transcriptome Analysis Identifying FGF23 Regulated Genes in the Kidney of a Mouse CKD Model. *PLoS One* 2012; 7: e44161.

- [184] Perazella MA, Setaro JF. Renin-angiotensin-aldosterone system: fundamental aspects and clinical implications in renal and cardiovascular disorders. *J Nucl Cardiol* 2003; 10:184–196.
- [185] de Borst MH, Vervloet MG, ter Wee PM et al. Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF-23-klotho in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1603–1609.
- [186] Brandenburg VM, Kramann R, Koos R, et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *BMC Nephrol.* 2013; 14:219.
- [187] Cejka D, Marculescu R, Kozakowski N, et al. Renal elimination of sclerostin increases with declining kidney function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99:248–55.
- [188] Sabbagh Y, Graciolli FG, O'Brien S, et al. Repression of osteocyte Wnt/beta-catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res.* 2012; 27:1757–72.
- [189] Claes KJ, Viaene L, Heye S, Meijers B, d'Haese P, Evenepoel P. Sclerostin: another vascular calcification inhibitor? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013 Aug;98(8):3221-8.
- [190] Yilmaz M, Sonmez A, Saglam M, et al. Comparison of calcium acetate and sevelamer on vascular function and fibroblast growth factor 23 in CKD patients: a randomized clinical trial. *Am. J. Kidney Dis.* 2012;59(2):177–85.
- [191] Jimbo R, Shimosawa T. Cardiovascular risk factors and chronic kidney disease - FGF23: a key molecule in the cardiovascular disease. *Int J Hypert.* 2014. Article ID 381082. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/381082>.
- [192] Scialla JJ, Wolf M. Roles of phosphate and fibroblast growth factor 23 in cardiovascular disease. *Nat. Rev. Nephrol.* 2014;10: 268–78.
- [193] Block GA, Wheeler DC, Persky MS, et al. Effects of phosphate binders in moderate CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2012;23(8):1407–15.
- [194] Isakova T, Ix JH, Sprague SM, et al. Rationale and approaches to phosphate and fibroblast growth factor 23 reduction in CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015;26(10):2328–39.
- [195] Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, et al. European Uremic Toxin (EUTox) Work Group. FGF23 is independently associated with vascular calcification but

- p not bone mineral density in patients at various CKD stages.
- Osteoporos. Int.*
- 2012;23(7):2017–25.
- [196] Charan J, Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research? *Indian J Psychol Med.* 2013; 35(2): 121–6.
- [197] CKD stages [homepage on the Internet]. Hampshire, UK: The Renal Association 2013. [cited 2017 Jan 18] Available from: <http://www.renal.org/information-resources/the-uk-eckd-guide/ckd-stages#sthash.a9cAgcI7.dpbs>.
- [198] Sinha M, Turner C, Dalton RN, Rasmussen P, Waller S, Booth CJ, et al. Investigating FGF-23 concentrations and its relationship with declining renal function in paediatric patients with pre-dialysis CKD Stages 3–5. *Nephrol Dial Transplant* (2012) 27: 4361–4368.
- [199] Yamashita H, Yamazaki Y, Hasegawa H, et al. Fibroblast Growth Factor-23 in Patients with Graves' Disease before and after Antithyroid Therapy: Its Important Role in Serum Phosphate Regulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(7):4211–5.
- [200] Yamazaki Y, Okazaki R, Shibata M, et al. Increased circulatory level of biologically active full-length FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4957–60.
- [201] Kirkpantur A, Balci M, Turkvatan A, Afsar B. Serum sclerostin levels, arteriovenous fistula calcification and 2-years all-cause mortality in prevalent hemodialysis patients. *Nephrologia.* 2016;36(1):24–32.
- [202] Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004–2006). *Cerebrovasc Dis.* 2007;23(1):75–80.
- [203] Brkljačić B. Vaskularni ultrazvuk. Medicinska naklada. Zagreb. 2010. str.171.
- [204] Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest.* 2004;113: 561–8.
- [205] Stubbs JR, He N, Idiculla A, et al. Longitudinal evaluation of FGF23 changes and mineral metabolism abnormalities in a mouse model of chronic kidney disease. *J Bone Miner Res.* 2012;27:38–46.
- [206] Touchberry CD, Green TM, Tchikrizov V, et al. FGF23 is a novel regulator of intracellular calcium and cardiac contractility in addition to cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304:E863–873.

- [207] Faul C, Amaral AP, Oskouei B et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011; 121: 4393–408.
- [208] Isakova T, Xie H, Yang W et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA* 2011; 305: 2432–9.
- [209] Marcos AG, Watanabe R, Lemos MM, Canziani MEF. Evaluation of intima-media thickness in patients with chronic kidney disease not on dialysis: a prospective study of 24 month. *J Bras Nefrol* 2014;36:35–41.
- [210] Kurnatowska I, Grzelak P, Kaczmarska M, Stefańczyk L, Nowicki M. Serum osteoprotegerin is a predictor of progression of atherosclerosis and coronary calcification in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2011;117:297–304.
- [211] Moe SM, O'Neill KD, Reslerova M, et al. Natural history of vascular calcification in dialysis and transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:2387–93.
- [212] Janda K, Krzanowski M, Gajda M, et al. Cardiovascular risk in chronic kidney disease patients: intima-media thickness predicts the incidence and severity of histologically assessed medial calcification in radial arteries. *BMC Nephrology* 2015; 16:78.
- [213] Gaspar Marcos A, Watanabe R, Montebello Lemos M, Fernandes Canziani ME. Evaluation of intima-media thickness in patients with chronic kidney disease not on dialysis: a prospective study of 24 months. *J Bras Nefrol* 2014;36(1):35-41.
- [214] Suri J, Kathuria C. Molinari F. *Atherosclerosis Disease Management*. 2011. Berlin. Springer.
- [215] Fabris F, Zancocchi M, Bo M, Fonte G, Poli L, Bergoglio I, et al. Carotid plaque, aging, and risk factors. A study of 457 subjects. *Stroke* 1994; 25: 1133–40.
- [216] Kato A, Takita T, Maruyama Y, Kumagai H, Hishida A. Impact of carotid atherosclerosis on long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2003;64: 1472–9.
- [217] Ekart R, Hojs R, Hojs-Fabjan T, Balon BP. Predictive value of carotid intima media thickness in hemodialysis patients. *Artif Organs* 2005; 29: 615–9.
- [218] Zhang L, Zuo L, Wang F, et al. Cardiovascular disease in early и stages of chronic kidney disease in a Chinese population. *J Am Soc Nephrol* 2007;17:2617-21.

- [219] De Groot E, Kastelein JJP, Duivenvoorden. Carotid intima-media thickness. UpToDate. 2017. [20th July 2017]. Available from <https://www.uptodate.com/contents/carotid-intima-media-thickness>.
- [220] Cianciolo G, La Manna G, Donati G, et al. Coronary calcifications in end-stage renal disease patients: a new link between osteoprotegerin, diabetes and body mass index? *Blood Purif* 2010, 29:13–22.
- [221] Hawley C. Calcium x phosphate product. The CARI Guidelines - Caring for Australasians with Renal Impairment. Available from: <http://www.cari.org.au/Dialysis/dialysis%20biochemical%20hematological/Calcium%20and%20phosphate%20product.pdf>.
- [222] Janda K, Krzanowski M, Chowaniec, et al. Osteoprotegerin as a marker of cardiovascular risk in patients on peritoneal dialysis. *Pol Arch Med Wewn.* 2013;123(4):149-55.
- [223] Szeto C, Chow K, Woo K, et al. Carotid intima media thickness predicts cardiovascular diseases in Chinese predialysis patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:1966-72.
- [224] Hsu JJ, Katz R, Ix JH, de Boer IH, Kestenbaum B, Shlipak MG. Association of fibroblast growth factor-23 with arterial stiffness in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Nephrol Dial Transplant.* 2014;29:2099-105.
- [225] Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int* 2013; 83: 1159–1168.
- [226] Ketteler M, Biggar PH. FGF23: more a matter of the heart than of the vessels? *Nephrol Dial transplant.* 2014;29:1987-8.
- [227] Turan MN, Kircelli F, Yaprak M, et al. FGF-23 levels are associated with vascular calcification, but not with atherosclerosis, in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2016;48:609–17.
- [228] Zeng Y, Feng S, Han OY, et al. Role of fibroblast growth factor-23 in the pathogenesis of atherosclerosis in peritoneal dialysis patients. *Genet Mol Res.* 2015 Jan 30;14(1):719-29.
- [229] Balci M, Kirkpantur A, Gulbay M, et al. Plasma fibroblast growth factor-23 levels are independently associated with carotid artery atherosclerosis in maintenance hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2010; 14:425–32.

- [230] Jimbo R, Kawakami-Mori F, Mu S et al. Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of Klotho deficiency. *Kidney Int.* 2014; 85:1103–11.
- [231] Lindberg K, Olauson H, Amin R et al. Arterial klotho expression and FGF23 effects on vascular calcification and function. *PLoS One.* 2013;8:e60658.
- [232] Cejka D, Jäger-Lansky A, Kieweg H et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:226-30.
- [233] Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, Hadj-Aissa A, Fouque D. The relation between renal function and serum sclerostin in adult patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:819_23.
- [234] Bruzzesse A, Lacquaniti A, Cernaro V, et al. Sclerostin levels in uremic patients: a link between bone and vascular disease. *Ren Fail.* 2016;38(5):759-64.
- [235] Delanaye P, Krzesinski JM, Warling X, et al. Clinical and biological determinants of sclerostin plasma concentration in hemodialysis patients. *Nephron. Clin. Pract.* 2014;128:127–34.
- [236] Schiavi SC, Moyses RM. Turning over renal osteodystrophy dogma: direct actions of FGF23 on osteoblast beta-catenin pathway. *Kidney Int.* 2016;90:17–20.
- [237] Sabbagh Y, Giorgeti Gracioli F, O'Brien S, et al. Repression of Osteocyte Wnt/b-Catenin Signaling Is an Early Event in the Progression of Renal Osteodystrophy. *J Bone Miner Res.* 2012 Aug;27(8):1757-72.
- [238] Catalano A, Pintaudi B, Morabito N, Di Vieste G, Giunta L, Bruno ML, et al. Gender differences in sclerostin and clinical characteristics in type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 2014;171(3):293-300.
- [239] Garcia-Martin A, Rozas-Moreno P, Reyes-Garcia R, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; 97:234–41.
- [240] Chapurlat RD, Confavreux CB. Novel biological markers of bone: from bone metabolism to bone physiology. *Rheumatology* 2016;55:1714-25.
- [241] Zhu D, Mackenzie NC, Millán JL, Farquharson C, MacRae VE. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. *PLoS One.* 2011;6:e19595.

- [242] Lv W, Guan L, Zhang Y, et al. Sclerostin as a new key factor in vascular calcification in chronic kidney disease stages 3 and 4. *Int Urol Nephrol*. 2016;48:2043–50.
- [243] Brandenburg VM, Kramann R, Koos R, Krüger T, Schurgers L, Mühlenbruch G, et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *BMC Nephrology* 2013, 14:219.
- [244] Carvalho Goncalves FL, Elias RM, dos Reis LM, Gracioli FG, Zampieri FG, Oliveira RB, et al. Serum sclerostin is an independent predictor of mortality in hemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2014, 15:190.
- [245] Drechsler C, Evenepoel P, Vervloet MG, Wanner C, Ketteler M, Marx N, et al. High levels of circulating sclerostin are associated with better cardiovascular survival in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. *Nephrol Dial Transplant*.2014;0:1-6.
- [246] Viaene L, Behets GJ, Claes K, Meijers B, Blocki F, Brandenburg V, et al. Sclerostin: another bone-related protein related to all-cause mortality in haemodialysis? *Nephrol Dial Transplant*.2013;28:3024-30.
- [247] Lips L, de Roij van Zuijdewijn CLM, ter Wee PM, et al. Serum sclerostin: relation with mortality and impact of hemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* (2017) 32: 1217–23.
- [248] Nowak A, Artunc F, Serra AL, Pollock E, Krayenbühl PA, Müller c, et al. Long-Term Mortality Parameter in Prevalent Hemodialysis Patients? *Kidney Blood Press Res* 2015;40:266-276.
- [249] Gaudio A, Privitera F, Pulvirenti I, Canzonieri E, Rapisarda R, Fiore CE. The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (sclerostin and Dickkopf-1) and carotid intima-media thickness in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & vascular disease research*. 2014;11(1):48-52.
- [250] Yang CY, Chang ZF, Chau YP, et al. Circulating Wnt/ β -catenin signalling inhibitors and uraemic vascular calcifications. *Nephrol Dial Transplant*.2015;30:1356–63.
- [251] Drake MT, Khosla S. Hormonal and systemic regulation of sclerostin. *Bone*.2017;96:8–17.
- [252] Krischna SM, Seto SW, Jose RJ, et al. Wnt Signaling Pathway Inhibitor Sclerostin Inhibits Angiotensin II–Induced Aortic Aneurysm and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37:553-66.

- [253] Inda Filho AJ, Melamed ML. Vitamin D and Kidney Disease. What we know and what we do not know. *J Bras Nefrol* 2013;35(4):323-31.
- [254] Garcia-Canton C, Bosch E, Ramirez A, et al. Vascular calcification and 25-hydroxyvitamin D levels in non-dialysis patients with chronic kidney disease stages 4 and 5. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 2250–6.
- [255] Drechsler C, Verduijn M, Pilz S, et al. Vitamin D status and clinical outcomes in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26:1024–32.
- [256] Aoshima Y, Mizobuchi M, Ogata H, et al. Vitamin D receptor activators inhibit vascular smooth muscle cell mineralization induced by phosphate and TNF- α . *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(5):1800-6.
- [257] Panizo S, Barrio-Vazquez S, Naves-Diaz M, et al. Vitamin D receptor activation, left ventricular hypertrophy and myocardial fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28:2735–44.
- [258] Thadhani R, Appelbaum E, Pritchett Y, et al. Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA*. 2012 Feb 15;307(7):674-84.
- [259] Lee SY, Kim HY, Gu SW, Kim HJ. 25-Hydroxyvitamin D Levels and Vascular Calcification in Predialysis and Dialysis Patients with Chronic Kidney Disease. *Kidney Blood Press Res* 2012;35:349–54.
- [260] Diniz HF, Romao MF, Elias RM, Romao Jn JE. Vitamin D deficiency and insufficiency in patients with chronic kidney disease. *J Bras Nefrol* 2012;34(1):58-63.
- [261] Rozita M, Noorul Afidza M, Ruslinda M, et al. Serum Vitamin D levels in patients with chronic kidney disease. *EXCLI Journal*. 2013;12:511-20.
- [262] Collins MT, Lindsa JP, Jain A, et al. Fibroblast growth factor-23 is regulated by 1,25-dihydroxyvitamin D. *J. Bone Miner. Res*. 2005;20:1944–50.
- [263] Urena P, Hruby M, Ferreira A, et al. Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 1996 Mar;7(3):506-12.
- [264] Couttenye MM, D'Haese PC, Van Hoof VO, et al. Low serum levels of alkaline phosphatase of bone origin: a good marker of adynamic bone disease in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11:1065-72.

- [265] Drechsler C, Grootendorst DC, Boeschoten EW, Krediet RT, Wanner C, Dekker FW. Changes in parathyroid hormone, body mass index and the association with mortality in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:1340–6.
- [266] Rodriguez M, Lorenzo V. Parathyroid hormone, a uremic toxin. *Semin Dial* 2009; 22:363–8. Drechsler C, Krane V, Grootendorst DC, et al. The association between parathyroid hormone and mortality in dialysis patients is modified by wasting. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:3151–7.
- [267] Lamb EJ, Delaney MP. Does PTH offer additive value to ALP measurement in assessing CKD-MBD? *Perit Dial Int.* 2014;34:687-91.
- [268] Gal-Moscovici A, Popovtzer MM. New worldwide trends in presentation of renal osteodystrophy and its relationship to parathyroid hormone levels. *Clin Nephrol* 2005; 63:284–9.
- [269] Sardiwal S, Gardham C, Coleman AE, Stevens PE, Delaney MP, Lamb EJ. Bone-specific alkaline phosphatase concentrations are less variable than those of parathyroid hormone in stable hemodialysis patients. *Kidney Int* 2012; 82:100–5.
- [270] Manghat P, Fraser WD, Wierzbicki AS, Fogelman I, Goldsmith DJ, Hampson G. Fibroblast growth factor-23 is associated with C-reactive protein, serum phosphate and bone mineral density in chronic kidney disease. *Osteoporos Int* 2009; 21:1853–61.
- [271] Sardiwal S, Magnusson P, Goldsmith DJ, Lamb EJ. Bone alkaline phosphatase in CKD-mineral bone disorder. *Am J Kidney Dis.* 2013 Oct;62(4):810-22.
- [272] Iimori S, Mori Y, Akita W, Kuyama T, Takada S, Asai T, et al. Diagnostic usefulness of bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in predicting fracture in CKD stage 5D patients—a single-center cohort study. *Nephrol Dial Transplant* (2012) 27: 345–351.
- [273] Urena P, de Vernejoul MC. Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. *Kidney Int.* 1999;55:2141–56.
- [274] Delanaye P, Dubois BE, Jouret F, et al. Parathormone and bone-specific alkaline phosphatase for the follow-up of bone turnover in hemodialysis patients: Is it so simple? *Clinica Chimica Acta.* 2013;417:35–8.
- [275] Couttenye MM, D’Haese PC, Deng J, Vanhoof VO, Verpooten G, DeBroe ME: High prevalence of adynamic bone disease diagnosed by biochemical markers in a wide sample of the European CAPD population. *Nephrol Dial Transplant.* 1997;12:2144–50.

- [276] Fukushima N, Suzuki A, Fukushima K, et al. Impact of the serum bone-specific alkaline phosphatase level at the initiation of hemodialysis therapy for end-stage renal disease on cardiovascular events. *IJC Metabolic & Endocrine*.2014; 4:58–62.
- [277] Kalantar-Zadeh K, Kuwae N, Regidor DL, Kovesdy CP, Kilpatrick RD, Shinaberger CS, et al. Survival predictability of time-varying indicators of bone disease in maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 2006; 70:771–80.
- [278] Ganesh S.K., Stack A.G., Levin N.W., et al. Association of elevated serum PO(4), Ca × PO(4) product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients, *J. Am. Soc. Nephrol.*2001;12(10):2131–8.
- [279] Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, et al. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2011; 305:1119–27.
- [280] Qunibi W, Kalantar-Zadeh K. Target levels for serum phosphorus and parathyroid hormone. *Semin Dial* 2011; 24: 29–33.
- [281] Maruyama Y, Taniguchi M, Kazama JJ, et al. A higher serum alkaline phosphatase is associated with the incidence of hip fracture and mortality among patients receiving hamodialysis in Japan. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29:1532–8.
- [282] Kovesdy CP, Ureche V, Lu JL, Kalantar-Zadeh K. Outcome predictability of serum alkaline phosphatase in men with pre-dialysis CKD. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25: 3003–3011.
- [283] KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 2017;7(1):1-59.
- [284] Hay E, Bouaziz W, Funck-Brentano T, et al. Sclerostin and Bone Aging: Mini-Review. *Gerontology* 2016;62:618–623.
- [285] Graciolli FG, Neves KR, Barreto F, et al. The complexity of chronic kidney disease–mineral and bone disorder across stages of chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2017;91(6):1436-46.
- [286] Kalem MN, Kalem Z, Akgun N, et al. The relationship between postmenopausal women’s sclerostin levels and their bone density, age, body mass index, hormonal

- p status, and smoking and consumption of coffee and dairy products. Arch Gynecol Obstet. 2017;295:785–93.
- [287] Malluche HH, Ritz E, Lange HP, et al. Bone histology in incipient and advanced renal failure. Kidney Int. 1976;9:355–62.
- [288] Vervloet MG, Massy ZA, Brandenburg VM, Mazzaferro S, Cozzolino M, Ureña-Torres P, Bover J, Goldsmith D, CKD-MBD Working Group of ERA-EDTA. "Bone: a new endocrine organ at the heart of chronic kidney disease and mineral and bone disorders". Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2(5):427-36.
- [289] Gupta D, Brietzke S, Hayden MR, Kurukulasuriya LR, Sowers JR. Phosphate metabolism in cardiorenal metabolic disease. Cadriorenal Med. 2011;1:261-70.
- [290] Six I, Okazaki H, Gross P, et al. Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium. PLoS One. 2014; 9:e93423.
- [291] Voigt M, Fischer DC, Rimpau M, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-23 and fetuin-A in calcified carotid atheroma. Histopathology.2010; 56:775–88.
- [292] Munoz Mendoza J, Isakova T, Ricardo AC, et al. Fibroblast growth factor 23 and Inflammation in CKD. Clin J Am Soc Nephrol. 2012; 7:1155–62.
- [293] Liu P, Chen L, Bai X, et al. Impairment of spatial learning and memory in transgenic mice overexpressing human fibroblast growth factor-23. Brain Res. 2011; 1412:9–17.
- [294] Thumfart J, Hilliger T, Stiny C, et al. Is peritoneal dialysis still an equal option? Results of the Berlin pediatric nocturnal dialysis program. Pediatr Nephrol. 2015; 30: 1181-7.
- [295] Gonzalez-Parra E, Gonzalez-Casaus ML, Galan A et al. Lanthanum carbonate reduces FGF23 in chronic kidney disease stage 3 patients. Nephrol Dial Transplant 2011; 26: 2567–71.
- [296] Oliveira RB, Cancela ALE, Graciolli FG et al. Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy. Clin J Am Soc Nephrol 2010; 5: 286–91.
- [297] Sprague SM, Wetmore JB, Gurevich K, et al. Effect of cinacalcet and vitaminD analogs on fibroblast growth factor-23 during the treatment of secondary hyperparathyroidism. Clin JAmSoc Nephrol.2015; 10:1021–30.
- [298] Haffner D, Schaefer F. Searching the optimal PTH target range in children undergoing peritoneal dialysis: new insights from international cohort studies. Pediatr Nephrol. 2013;28:537–45.

- [299] Shroff R, Aitkenhead H, Costa N, et al. Normal 25-hydroxyvitamin D levels are associated with less proteinuria and attenuate renal failure progression in children with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2016; 27:314–22.
- [300] Yokoyama K, Hirakata H, Akiba T, et al. Ferric citrate hydrate for the treatment of hyperphosphatemia in nondialysis-dependent CKD. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2014; 9:543–52.
- [301] Wyatt CM, Drueke TB. Fibroblast growth factor receptor 4: the missing link between chronic kidney disease and FGF23-induced left ventricular hypertrophy? *Kidney Int* 89:7–9.
- [302] Sun N, Guo Y, Liu W, et al. FGF23 neutralization improves bone quality and osseointegration of titanium implants in chronic kidney disease mice. *Sci Rep.* 2015 Feb 10;5:8304.
- [303] Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E: Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res.* 2011; 26: 19–26.

9. Списак скраћеница

ACE – ангиотензин-конвертујући ензим

AGEs - крајњи производи гликације

ALP - алкална фосфатаза

BALP – коштаног-специфична алкална фосфатаза

BFR – брзина формирања кости

Ca - калцијум

CaSR - калцијум-сензинг рецептор

CKD-EPI - *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation*

CKD-MBD - поремећај метаболизма минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести

Cr – серумски креатинин

CYP24A1 - 24-хидроксилаза

CYP27B1 - 1- α -хидроксилаза

DKK-1 - *Dickkopf-related protein-1*

FGF23 - фибробластни фактор раста 23

FGFR - рецептор фибробластног фактора раста

GFR – јачина гломерулске филтрације

ХББ - хронична бубрежна болест

IGF- инсулино-сличан фактор раста-1

IL-1 - интерлеукин 1

KDIGO - *Kidney disease improving global outcomes*

LRP 5/6 - *low-density lipoprotein receptor-related protein*

ГИТ – гастроинтестинални тракт

P - фосфат

PPi - неоргански пирофосфат

PLC γ - *Phosphoinositide-specific phospholipase C gamma*

PTH – паратиреоидни хормон

PMN – полиморфонуклеарни леукоцити

PMBCm- моноцити из периферне крви

RANK- *receptor activator of nuclear factor kappa B*

RANKL - *receptor activator of nuclear factor kappa B ligand*

OPG - *osteoprotegerin*

ROS – реактивна кисеонична једињења

MAPK - *mitogen-activated protein kinase*

mRNA – месенџер рибонуклеинска киселина

MDRD- *Modification of Diet in Renal Disease Formula*

NFAT пут - *Calcineurin-nuclear factor of activation T-cells pathway*

NaPi - натријум-фосфатни транспортер у реналним тубулима

sFRP4 (*Secreted frizzled-related protein*) - *WNT* антагониста.

TRPV5 - *Transient receptor potential cation channel subfamily V member*

TNF - фактор туморске некрозе

TGF-β1 – трансформишући фактор раста -*β1*

Wnt - *Wingless-type MMTV* – *mouse mammary tumor virus* - сигнални пут

10. Биографија

Андреја Фигурек је рођена 17.09.1986. године у Бањој Луци. Основну школу "Бранко Ћопић" и Гимназију "Рада Враћешевих" у Прњавору завршила је одличним успјехом као носилац Вукове дипломе и најбољи ученик у генерацији.

Медицински факултет у Бањој Луци уписала је 2005. године заузевши прво мјесто на ранг-листи са остварених максималних 100 бодова. Дипломирала је 14.10.2011. године прије почетка апсолвентског стажа, са просјечном оцјеном 9,59. Била је члан журналистичке и научно-истраживачке секције, те студент-демонстратор на предмету Анатомија. Била је стипендиста Предсједника Републике Српске, фонда "Др Милан Јелић" за успјешне таленте.

У УКЦ Републике Српске запослена је од 07.12.2011. године. Завршна је година специјализације из нефрологије. Написала је десетине научних и стручних радова. Коаутор је научне монографије "Дијагностичке методе у болестима бубрега" у издању Медицинског факултета Бања Лука.

Асистент је на Медицинском факултету Бања Лука. Активно се служи енглеским и њемачким језиком. Научно и клиничко искуство је усавршавала у иностранству: Универзитетској болници Патрас (Грчка), Универзитетској болници Грац (Аустрија), Универзитетској болници Беч (Аустрија), Универзитету у Копенхагену (Данска). Завршни дио специјализације обавља у Универзитетској болници у Цириху, под менторством Проф. др Томаса Милера. Добитник је стипендије аустријске Агенције за међународну мобилност и сарадњу у образовању, науци и истраживању.

Члан је Удружења нефролога Републике Српске, Удружења нефролога Србије, Европског удружења нефролога и Удружења доктора медицине Републике Српске. Члан је уређивачког одбора часописа "Научни часопис клиничке медицине" Њујорк и рецензент Румунског часописа интерне медицине.

Испите на докторским студијама је положила са просјечном оцјеном 9,87. Докторску дисертацију под називом "Улога фибробластног фактора раста 23 у раној дијагностици поремећаја метаболизма минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести" израдила је под менторством Проф. др. Сњежане Поповић-Пејичић и коменторством Проф. др Неле Рашете.

Изјава 1

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем
да је докторска дисертација

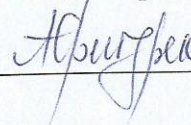
Наслов рада Улога фибробластног фактора раста 23 у раној дијагностици поремећаја метаболизма минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести

Наслов рада на енглеском језику The role of fibroblast growth factor 23 in early diagnosis of chronic kidney disease – mineral and bone disorder

- ☒ резултат сопственог истраживачког рада,
- ☒ да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- ☒ да су резултати коректно наведени и
- ☒ да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци, дана 14.11.2017. године

Потпис докторанта



Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом
Улога фибробластног фактора раста 23 у раној дијагностици поремећаја метаболизма
минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести
која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

Докторску дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату
погодном за трајно архивирање.

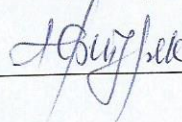
Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у
Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце
Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио/ла.

- ☐ Ауторство
- ☐ Ауторство – некомерцијално
- ☒ Ауторство – некомерцијално – без прераде
- ☐ Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
- ☐ Ауторство – без прераде
- ☐ Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци
дат је на полећини листа).

У Бањој Луци, дана 14.11.2017. године

Потпис докторанта



Изјава 3

Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора Андреја Фигурек

Наслов рада Улога фибробластног фактора раста 23 у раној дијагностици
поремећаја метаболизма минерала и коштане масе у хроничној бубрежној болести

Ментор Проф. др Сњежана Поповић-Пејичић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци, дана 14.11.2014 године

Потпис докторанта

