

11. STRESZCZENIE

Wstęp

Zaburzenia metaboliczne w przewlekłej chorobie nerek prowadzą do rozwoju miażdżycy, która leży u podłoża powikłań sercowo-naczyniowych. Powikłania te stanowią główną przyczynę zgonów w populacji pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek. W rozwoju miażdżycy obserwuje się wiele zaburzeń dotyczących m.in. gospodarki lipidowej, układu krzepnięcia, produkcji wolnych rodników tlenowych, czy procesów naprawczych w obrębie śródbłonka naczyń krwionośnych. Jednak wiodącą rolę w progresji aterogenezy odgrywają nieprawidłowości w zakresie gospodarki wapniowo-fosforanowej, które uruchamiają mechanizmy prowadzące do powstawania zwapnień w obrębie blaszki środkowej ścian naczyń tętnicznych. U dzieci z przewlekłą chorobą nerek, już we wczesnych etapach jej trwania, dochodzi do uszkodzenia śródbłonka z następową aktywacją procesów prowadzących do kalcyfikacji mięśniówki gładkiej naczyń. Do czynników zaangażowanych w proces aterogenezy i wapnienia naczyniowego należą m.in. inhibitory (OPN i BMP-7) i stymulatory kalcyfikacji (PDGF-BB). Ich udział w tym procesie został potwierdzony w badaniach na modelach zwierzęcych oraz w nielicznych pracach klinicznych, przeprowadzonych na grupie dorosłych chorych na PChN. Brak jest podobnych obserwacji u dzieci.

Cel pracy

Celem pracy była ocena osoczowych stężeń osteopontyny, płytkowego czynnika wzrostu- BB, oraz morfogenetycznego białka kostnego-7 u dzieci z przewlekłą chorobą nerek leczonych zachowawczo oraz przewlekłymi dializami w powiązaniu z

innymi wskaźnikami ryzyka rozwoju zmian miażdżycowych. Dodatkowym celem była również odpowiedź na pytanie czy rodzaj dializoterapii oraz czas jej trwania wpływają na wartości stężeń badanych białek i czy pojedyncza sesja hemodializy zmienia w sposób znaczący ich zawartość w osoczu.

Materiał i metody

Badaniem objęto 69 dzieci z PChN. Przyczyną przewlekłej choroby nerek było: wrodzone wady nerek i układu moczowego- u 52,17 % pacjentów, przewlekłe glomerulopatie w 18,84 % przypadków, torbielowatość nerek-u 11,59 % dzieci, pęcherz neurogeny-u 7,24 % badanych, zespół hemolityczno mocznicowy- w 2,89 % przypadków, sepsa-u 1,44% pacjentów, przyczyny nieznane u 5,79 % dzieci. Pacjenci zostali podzieleni na trzy grupy w zależności od stadium PChN i zastosowanego leczenia nerkozastępczego. Do grupy I (grupa PChN) zaliczono 40 dzieci, 23 chłopców i 17 dziewczynek, w wieku od 3 miesiąca życia do 18 lat, średnia wieku - $8,98 \pm 3,6$ lat, leczonych zachowawczo w 1.- 4. stadium przewlekłej choroby nerek. Grupę II (Grupa- DO) stanowiło 17 dzieci, 8 chłopców i 9 dziewczynek w wieku od 12 do 18 lat, średnia wieku $12,29 \pm 5,89$ lat, dializowanych otrzewnowo. Czas trwania dializoterapii wynosił od 2 do 24 miesięcy, średnio 14 miesięcy. Do grupy III (Grupa HD) włączono 12 dzieci, 6 chłopców i 6 dziewczynek w wieku od 10 do 18 lat, średnia wieku $15,83 \pm 2,47$ lat, poddanych przewlekłej hemodializoterapii. Czas trwania leczenia tą metodą wynosił od 3 do 60 miesięcy, średnio. 20 miesięcy.

Grupę kontrolą stanowiło 23 zdrowych dzieci, 13 chłopców, 10 dziewczynek w wieku: od 5 do 17 lat, średnia wieku $-8,28 \pm 3,6$, diagnozowanych z powodu moczenia nocnego.

U każdego badanego oznaczono osoczowe stężenie OPN, BMP-7 oraz PDGF- BB metodą ELISA. U pacjentów hemodializowanych badania wykonywano dwukrotnie, przed i po zakończeniu zabiegu. Ponadto u wszystkich oznaczono surowicze stężenia: mocznika, kreatyniny, cholesterolu całkowitego, cholesterolu- LDL, cholesterolu- HDL oraz trójglicerydów, wapnia, fosforu. Obliczano także iloczyn wapniowo- fosforanowy oraz eGFR według oryginalnego wzoru Schwartz. U pacjentów z PChN oznaczono również stężenie parathormonu, hemoglobinę i hematokryt.

Wyniki

We wszystkich 3 grupach PChN stwierdzono istotnie wyższe wartości osoczowych stężeń OPN i białka BMP- 7, a znacząco niższe - PDGF- BB w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenia OPN były najwyższe, a PDGF-BB najniższe u dzieci hemodializowanych, i różniły się one istotnie od obserwowanych w grupie leczonych zachowawczo. Nie wykazano natomiast różnic w stężeniach obu tych białek pomiędzy obu grupami leczonymi nerkozastępczo. Stężenia BMP- 7 nie różniły się znamienne w żadnej z wyodrębnionych grup dzieci z PChN. Wykazano, że po pojedynczym zabiegu hemodializy dochodzi do istotnego obniżenia osoczowego stężenia OPN oraz do wzrostu stężenia PDGF-BB, podczas gdy wartości stężeń BMP- 7 pozostają stabilne. Badania dotyczące wzajemnych powiązań pomiędzy badanymi białkami wykazały tylko dodatnią korelację OPN z BMP-7 oraz BMP-7 z PDGF-BB w grupie PChN leczonych zachowawczo. Analiza zależności pomiędzy wybranymi parametrami gospodarki wapniowo- fosforanowej oraz lipidowej a badanymi markerami kalcyfikacji wykazały nieliczne korelacje. W grupie dzieci z PChN leczonych zachowawczo OPN i BMP-7 korelowały dodatnio z kreatyniną, a

ujemnie z wapniem w surowicy, a ponadto BMP-7 z fosforem w surowicy oraz wartością iloczynu wapniowo- fosforanowego. W grupie pacjentów dializowanych otrzewnowo stwierdzono dodatnią korelację BMP-7 z kreatyniną a PDGF-BB z trójglicerydami. W populacji hemodializowanych dzieci wykazano dodatnie korelacje pomiędzy BMP-7 a mocznikiem i fosforem oraz PGDF-BB z wartością iloczynu wapniowo- fosforanowego i LDL.

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano następujące wnioski:

1. U dzieci z PChN dochodzi do istotnych zmian osoczowych stężeń wszystkich badanych cząsteczek w porównaniu do zdrowych rówieśników. Wzrost stężenia osteopontyny oraz obniżenie stężenia PDGF- BB ulegają nasileniu wraz z pogorszeniem się funkcji nerek, podczas gdy wartości stężeń BMP-7 wydają się być niezależne od progresji PChN.
2. Metoda przewlekłej dializoterapii oraz całkowity czas jej trwania nie mają znaczącego wpływu na średnie wartości stężeń badanych białek w osoczu.
3. Pojedynczy zabieg hemodializy wpływa na czasowe zmiany osoczowych stężeń PDGF- BB i osteopontyny lecz nie na stężenie BMP- 7. Najprawdopodobniej, wzrost stężenia PDGF- BB można wiązać ze stymulacją sekrecji tego białka z płytek krwi podczas kontaktu z błoną dializacyjną, zaś spadek stężenia OPN z wydializowaniem jej cząsteczek.
4. U dzieci z PChN wzrost osoczowych stężeń OPN oraz BMP-7 jako inhibitorów kalcyfikacji wraz z obniżeniem stężenia PDGF-BB, stymulatora wapnienia, mogą odzwierciedlać wczesne uruchomienie mechanizmów obronnych związanych z miażdżycą i kalcyfikacją naczyń. Ich natura wydaje się być

bardziej złożona, za czym przemawia brak oczekiwanych, wzajemnych zależności pomiędzy badanymi białkami oraz pomiędzy nimi a wskaźnikami gospodarki wapniowo-fosforanowej i lipidowej.

5. Rola badanych krążących białek w procesie przedwczesnej miażdżycy i kalcyfikacji naczyń u dzieci chorych na PChN nerek wymaga dalszych badań.

12.SUMMARY

Introduction:

Metabolic disorders observed in chronic kidney disease lead to atherosclerosis- the dominant cause of cardiovascular complications. These complications are the main cause of morbidity and mortality among patients with end stage kidney disease. In the development of atherosclerosis abnormal lipid metabolism, coagulation, free radicals accumulation, and the disturbed endothelial healing processes are engaged. However, the role of calcium-phosphate metabolism disorders is of the great importance setting the mechanisms of calcifications in arterial tunica media. Endothelial damage is observed in children in early stages of chronic kidney disease and it is followed by medial artery calcification.

The molecules of paramount importance in atherogenesis and vascular calcification are calcification inhibitors (e.g. OPN, BMP-7) and calcification stimulators (e.g. PDGF-BB).

The role of above mentioned proteins was confirmed in experimental animal models and small number of clinical trials in adult patients with chronic kidney disease. There are no similar data in children with CKD.

The aim of the study was to assess the plasma concentration of osteopontin, platelet derived growth factor- BB, and bone morfogenetic protein-7 in children with CKD treated conservatively and on chronic dialysis in correlation to other markers of atherogenesis. The additional aim was the answer to the question whether the type of dialysis and the time of treatment influence the concentration values of investigated proteins and whether the single session of hemodialysis changes proteins' profile in plasma.

Material and methods: 69 children with CKD were included into the study. Among the CKD reasons in patients were: congenital anomalies of kidney and urinary tract (CAKUT)- 52,17 %, chronic glomerulopathies- 18,84 %, polycystic kidney disease- 11,59 %, neurogenic bladder - 7,24 % hemolytic uremic syndrome- 2,89 %, sepsis- 1,44%, unknown- 5,79 %. CKD patients were divided into three groups according to the CKD stage and the type of treatment: 1/ CKD-40 children on conservative treatment in different stages of CKD (1.- 4.) : 23 boys and 17 girls , aged: 3 months -18 y.o., mean $8,98 \pm 3,6$ years 2/ PD – 17 children on peritoneal dialysis: 8 boys and 9 girls, aged: 12 - 18 r.z.years. , mean $12,29 \pm 5,89$ y. Duration on PD: 2 - 24 months (mean – 14 months), 3/ HD- 12 children on hemodialysis, 6 boys and 6 girls, aged: 10-18 years, mean $15,83 \pm 2,47$. Duration on HD: 3- 60 months, mean 20 months.

The control group comprised 23 children, 13 boys, 10 girls, aged: 5-17 , mean: $8,28 \pm 3,6$) diagnosed in our hospital by nocturnal enuresis.

All children had the plasma levels of OPN, PDGF- BB and BMP- 7 checked by ELISA method. In HD patients plasma proteins concentrations were assessed twice, before and after single dialysis session.

Furthermore following parameters were determined in serum of patients: urea, creatinine, total cholesterol, LDL- cholesterol, HDL- cholesterol, triglicerydes, calcium and phosphate levels. In addition calcium- phosphate product was calculated, and GFR was estimated using original Schwarz formula. In CKD patients PTH levels, hemoglobin and hematocrit was measured.

Results: In all 3 groups of CKD patient significant increase in OPN and BMP- 7 concentrations, and marked decrease in PDFG- BB concentrations were observed comparing to the control group. The highest values of OPN and the lowest

values of PDGF-BB concentration were found in hemodialyzed children, however among both groups there was not significant difference. Also there was not significant change in concentration of BMP-7 among all groups of CKD patients. It was shown, that after single HD session there was significant increase in PDGF- BB and decrease in OPN levels, but BMP- 7 concentrations remained unchanged. Significant positive correlations between OPN and BMP-7 concentrations and BMP-7 and PDGF- BB concentrations were observed in CKD children on conservative treatment but not in PD and HD patients. There were not numerous significant correlations found among chosen parameters of calcium- phosphate metabolism and lipid profile and assessed proteins. In the group of CKD patients on conservative treatment positive correlation between OPN and creatinine and BMP-7 and creatinine was observed and negative between assessed proteins and calcium in serum, furthermore correlation between BMP-7 and phosphorus and calcium phosphate product was found. In PD patients positive correlations between BMP-7 and creatinine and PDGF-BB and triglicerydes was present. In hemodialyzed children positive correlations between BMP-7 and urea and phosphorus and in addition between PDGF- BB and calcium- phosphate product and LDL cholesterol was detected.

Taking into account the abovementioned results, the following conclusions was drawn:

1. In children with CKD significant changes in levels of all the assessed proteins appear comparing to the healthy controls. An increase in OPN levels and decrease in PDGF-BB concentration progress as renal failure advances, whereas BMP-7 levels remains unchanged.

2. The type of renal replacement therapy and the duration on dialysotherapy does not significantly influence assessed proteins concentrations.
3. A single hemodialysis session influence PDGF- BB and OPN concentrations, but not BMP- 7 levels. The increase in PDGF- BB may be related to its secretion from platelets during the contact with dialysis membrane, and the decrease of OPN levels is much likely connected with molecule removal on dialysis.
4. The increase of plasma concentrations of calcification inhibitors: OPN and BMP- 7 along with the decrease of calcification stimulator PDGF- BB may reflect an early mobilization of protective mechanisms against atherosclerosis and vascular calcification. However, the nature of these phenomenon is more complex what has been supported by the lack of expected mutual relations between assessed proteins and markers of calcium-phosphate and lipid metabolism.
5. The role of circulating forms of assessed proteins in the atherogenesis and vascular calcification in children with CKD requires further research.